PARIJS

N° d'enregistrement
au C N R S : A.O. 11632

thèse

de DOCTORAT ES-SCIENCES NATURELLES

présentée à

L'UNIVERSITE pierre et marie CURIE

pour obtenir le grade de Docteur Es-Sciences

par **Robert Manaranche**

contribution à la connaissance du système nerveux de Glycera convoluta (K.)

annélide-polychète

soutenue le 28 octobre 1975
devant le jury composé de:

Mr. le Pr. P. DRACH Président
Mr. le Pr. R. COUTEAUX
Mr. le Pr. Y. FRANÇOIS
Mr. M. ISRAEL (M. de R.)
Mr. le Pr. J. TAXI

N° d'enregistrement
au C N R S : A.O. 11632

thèse

de DOCTORAT ES-SCIENCES NATURELLES

présentée à

L'UNIVERSITE pierre et marie CURIE

pour obtenir le grade de Docteur Es-Sciences

par **Robert Manaranche**

contribution à la connaissance du système nerveux de Glycera convoluta (K.) annélide-polychète

soutenue le 28 octobre 1975

devant le jury composé de:

Mr. le Pr. P. DRACH Président

Mr. le Pr. R. COUTEAUX

Mr. le Pr. Y. FRANÇOIS

Mr. M. ISRAEL (M. de R.)

Mr. le Pr. J. TAXI

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION GENERALE ..... p. 1

CHAPITRE I - Etude anatomique et histologique .....p. 3

A - Introduction ..... p. 3
B - Techniques morphologiques..... p. 6
1° Microscopie optique..... p. 6
2° Microscopie électronique..... p. 8
C - Anatomie du ganglion cérébroïde..... p. 9
D - Etude histologique ..... p. 10
1° Le ganglion cérébroïde..... p. 11
a - La capsule enveloppante ..... p. 11
b - Les neurones géants..... p. 12
c - Les nucleus ..... p. 14
d - Commissures et tractus..... p. 20
e - Les ganglions annexes ..... p. 21
f - L'appareil sacculaire..... p. 21
g - Organes sensoriels prostomiaux..... p. 24
- Les organes nucaux..... p. 27
- Les antennes..... p. 28
2° Discussion..... p. 28
E - Le ganglion sous-oesophagien et la chaîne nerveuse ventrale ..... p. 33
1° Le ganglion sous-oesophagien ..... p. 33
2° La chaîne nerveuse ventrale..... p. 35
F - Conclusion ..... p. 36

CHAPITRE II - Etude cytologique ..... p. 38

A - La capsule enveloppante et la glie..... p. 38
1° La capsule enveloppante ..... p. 38
a - Le neurilemme..... p. 38
b - Le perilemme..... p. 40

2° La névroglie ..... p. 41
a - Les filaments gliaux ..... p. 41
b - Les granules..... p. 42
c - Les desmosomes et les espaces extracellulaires. p. 43
d - Discussion ..... p. 44
B - Les types cellulaires du sytème nerveux..... p. 46
1° Cellules d'allure photoréceptrice ..... p. 48
a - Description..... p. 48
b - Discussion ..... p. 51
α.Les cellules composant le ganglion I peuvent-elles avoir un rôle photorécepteur ?..... p. 51
β.A quel type morphologique d'organes photo-récepteurs peuvent s'apparenter les cellules du ganglion I ?..... p. 54
2° Les cellules nerveuses non sensorielles ..... p. 57
a - Les neurones "ordinaires"..... p. 58
b - Les cellules du nucleus II ..... p. 59
c - Les cellules neurosécrétrices..... p. 60
α.Type cellulaire I ..... p. 61
β.Type cellulaire II..... p. 62
γ.Type cellulaire III..... p. 62
d - Le complexe cérébro-hémal..... p. 63
c - Conclusion..... p. 64

CHAPITRE III - La médiation cholinergique..... p. 67
A - Introduction ..... p. 67
B - Techniques utilisées..... p. 68
1° Techniques biochimiques..... p. 68
a - Dosage de l'acétylcholine..... p. 68
b - Dosage de la choline acétyltransférase ..... p. 69
c - Dosage des cholinestérases..... p. 69
d - Identification de divers esters de la choline à partir de précurseurs radioactifs..... p. 70

2° Techniques histochimiques ..... p. 71
C - Résultats de l'étude biochimique..... p. 72
1° Synthèse de divers esters de la choline à partir de différents précurseurs radioactifs..... p. 72
2° Taux d'acétylcholine endogène..... p. 74
3° Taux de choline acétyl-transférase..... p. 75
4° Taux d'acétyl-cholinestérase..... p. 75
D - Résultats de l'étude morphologique et histochimique... p. 76
1° Ultrastructure des fibres nerveuses..... p. 76
2° Histochimie des cholinestérases..... p. 76
E - Discussion..... p. 76
F - Conclusion..... p. 81

CHAPITRE IV - La médiation adrénergique ..... p. 83

A - Introduction..... p. 83
B - Techniques utilisées..... p. 84
1° Techniques d'histofluorescence de Falck et Coll.. p. 84
2° Techniques ultrastructurales..... p. 85
3° Techniques biochimiques..... p. 86
a - Dosages spectrophotofluorimétriques..... p. 86
b - Etude radiochimique du métabolisme des amines catéchiques après injection de ^{3}H tyrosine..... p. 86
α.Analyse chromatographique des dérivés catéchiques..... p. 86
β.Etude comparée du temps de stockage de la dopamine et de la noradrénaline dans le système nerveux central de G. convoluta et le canal déférent du Rat..... p. 87
C - Résultats..... p. 88
1° Localisation des amines biogènes par la méthode de Falck et Coll..... p. 88
a - Ganglion cérébroïde..... p. 88
b - Chaîne nerveuse ventrale et ganglion sous oesophagien..... p. 89

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41548908_0026

c - Autres structures fluorescentes..... p. 89
2° Essai d'identification de fibres adrénergiques au niveau ultrastructural..... p. 89
3° Etude biochimique des amines biogènes..... p. 91
a - Détermination des taux de catécholamines et de 5-hydroxytryptamine..... p. 91
b - Analyse des amines catéchiques et de leurs métabolites..... p. 92
c - Etude comparée de la synthèse et du stockage de la dopamine et de la noradrénaline chez G. convoluta et chez le Rat..... p. 93
D - Discussion..... p. 95
E - Conclusion..... p. 97

CHAPITRE V - Possibilités de régénération du cérébroïde..... p. 99

A - Introduction..... p. 99
B - Techniques utilisées..... p. 100
1° Modes opératoires..... p. 100
2° Techniques morphologiques..... p. 102
3° Techniques biochimiques..... p. 102
C - Résultats..... p. 103
1° Etude histologique..... p. 103
a - Cicatrisation, activation et dédifférenciation des cellules épidermiques..... p. 103
b - Migration des cellules ectodermiques dédifférenciées et activées, et croissance des fibres du collier péri-oesophagien..... p. 104
2° Etude ultrastructurale..... p. 106
3° Etude biochimique..... p. 107
D - Discussion..... p. 109
E - Conclusion..... p. 111

Conclusion générale..... p. 113

Bibliographie..... p. 118

INTRODUCTION GENERALE

Les Annélides sont depuis longtemps pour les neurobiologistes, un embranchement d'un spécial intérêt, par certains de leurs représentants. La sangsue est, et restera sans doute, un merveilleux matériel pour le dosage biologique de l'acétylcholine. C'est chez la myxicole que l'on trouve les axones ayant le plus grand diamètre de tout le règne animal. La présence d'éléments cellulaires de grande dimension a fait des lombrics et des sangsues un matériel privilégié pour de nombreux travaux d'électro-physiologie. Le système nerveux des Annélides, si voisin dans son anatomie de celui des Arthropodes, retient aussi l'attention des zoologistes, préoccupés de problèmes de phylogénie.

L'extrême diversité des formes chez les Polychètes fait entrevoir d'intéressantes possibilités d'étude d'anatomie comparée. Ce sont des problèmes de cet ordre qui m'ont au début de ce travail entraîné à étudier le système nerveux central des Polychètes. La famille des Glyceridae, au prostomium tout à fait remarquable par l'extrême réduction des organes sensoriels, a attiré tout d'abord mon attention. En raison des commodités relatives d'approvisionnement, l'espèce Glycera convoluta est vite devenue mon matériel de routine. Dans la région de Roscoff, d'où provient la totalité des échantillons utilisés dans ce travail, cette espèce jamais très abondante, a une large répartition dans le sable grossier plus ou moins vaseux où elle se déplace avec agilité.

Au terme d'une étude morphologique qui s'est étalée sur plusieurs années, en raison des difficultés techniques rencontrées, l'occasion m'a été offerte d'entreprendre une étude biochimique de ce même matériel. Le travail comparatif que j'avais primitivement envisagé a été abandonné au profit d'une étude monographique, comportant alors une partie biochimique.

La perspective zoologique de notre entreprise n'a cependant pas été abandonnée. Les problèmes de neurobiologie fondamentale, qui constituent aujourd'hui l'essentiel des préoccupations de l'équipe à laquelle j'appartiens, ne peuvent, nous le savons bien, trouver de solutions, qu'en recherchant dans la diversité du règne animal le matériel le mieux approprié à tel ou tel but poursuivi en particulier. L'évocation de l'axone géant du calmar, des neurones de l'aplysie ou de l'organe électrique des poissons pour ne citer que les exemples les plus connus, suffit à montrer de quoi la neurobiologie est redevable à la zoologie.

De nombreuses études du genre de celle dont les résultats sont présentés ci-après, pourront, j'en suis convaincu, révéler des matériels adéquats à bien des problèmes fondamentaux, qui se posent aujourd'hui aux neurobiologistes.

CHAPITRE I

ETUDE ANATOMIQUE ET HISTOLOGIQUE

A - INTRODUCTION

Le système nerveux prostomial des Glyceridae a été étudié depuis plus d'un siècle par les zoologistes dont l'attention fut très tôt attirée par l'anatomie très particulière du prostomium, par rapport à toutes les autres familles de Polychètes. Cet organe, allongé et conique, ne porte dans le genre Glycera, comme organes des sens, que 4 petites antennes terminales et une paire d'organes nucaux en position proximale. Les espèces appartenant aux genres Goniada et Goniadella possèdent de plus une paire d'yeux et chez Eone emerita on trouve une paire d'yeux à la base et une autre à l'extrémité du prostomium.

C'est sans doute de Quatrefages (1841-1850) qui, le premier, a fourni une description, évidemment sommaire, du système nerveux des genres Glycera et Goniada. Mais c'est à Ehlers (1864-1868) que nous devons la première description détaillée du ganglion cérébroïde de l'espèce américaine Glycera dibranchiata. Cet auteur restera d'ailleurs le seul jusqu'en 1959 à avoir observé la présence de deux structures sphériques, creuses, représentant ce que nous savons être depuis les travaux de M. Simpson (1959), l'appareil sacculaire, volumineuses formations aux fonctions inconnues, qui ne constituent pas la moindre originalité de ce ganglion cérébroïde.

Dans une seconde période, Gravier (1898) a effectué un travail descriptif, basé sur des coupes histologiques, relativement détaillé mais dominé par le souci, essentiel à l'époque, de savoir si le prostomium était ou non assimilable aux métamères du corps. Gravier conclut ainsi son mémoire : ".. le prostomium des Annélides Polychètes, en l'état actuel de nos connaissances, paraît différer fondamentalement tant au point de vue morphologique

qu'au point de vue embryologique d'un métamère normal... Il constitue une région antérieure de valeur non segmentaire, où le système nerveux prend, en général, un développement considérable, qui a son individualité à un stade précoce du développement et la conserve pendant toute la durée de l'existence".

Gravier s'opposait par là à Pruvot (1885) qui soutenait que le prostomium des Polychètes devait être regardé comme formé de 3 segments fusionnés. Le travail de Gravier ne mettra pas un terme à la polémique sur la signification du prostomium annélidien. Binard et Jeener (1928), fidèles aux idées de Lameere, qui faisait dériver les Annélides des Cérianthes (Hexacoralliaires), ont proposé une théorie segmentaire du prostomium. Plus récemment Raw (1949) à partir de l'étude du cerveau des Euniciens, qu'il considère comme les plus primitifs, des Polychètes errantes, décrit des stades hypothétiques de l'évolution du système nerveux central qui, selon cet auteur, dérive d'une structure ancestrale, entièrement homonome, et au ganglion le plus antérieur de laquelle sont venus successivement se souder 3 ganglions provenant des métamères suivants.

Tout ceci est sans doute très ingénieux mais risque fort de demeurer purement spéculatif en l'absence de preuves paléontologiques dont on peut craindre raisonnablement qu'elles feront toujours défaut en la matière. Par ailleurs les travaux d'embryologie, sûrement encore très insuffisants, n'ont jusqu'ici jamais apporté le moindre élément consistant à l'appui des théories "segmentaires".

Chez les tenants d'une conception non métamérique du cerveau des Polychètes (Racovitza - 1899, Holmgren - 1916, Hanström - 1927 - 1928, Söderström - 1920, Gustafson - 1930) beaucoup, sinon tous, considèrent cependant la possibilité de distinguer 3 régions successives : antérieure, moyenne et postérieure dans cet organe. Gravier a voulu retrouver chez les Glycères ces divisions et a ainsi décrit :

- un cerveau moyen "centre de tout le système (...) formé de deux masses nerveuses bien distinctes, une postérieure de beaucoup la plus importante et une antérieure consistant en deux ganglions que l'on peut désigner sous le nom de ganglions annexes du cerveau moyen".

- un cerveau antérieur "constitué essentiellement par les nerfs antennaires et les masses ganglionnaires qui leur sont annexées".

- un cerveau postérieur "constitué par deux gros ganglions symétriques échancrés en arrière, dont la place est indiquée chez l'animal vivant par l'organe nucal cilié".

Ainsi, le ganglion cérébroïde si particulier des Glyceridae peut rentrer dans le "lit de Procuste" dessiné par Racovitza (1893) pour l'ensemble des Polychètes chez lesquelles il distingue : 3 régions "sensitivo-nerveuses" distinctes anatomiquement et physiologiquement. Chaque centre nerveux étant produit par l'organe sensitif qu'il innerve, conformément à la théorie de Kleinenberg (1886). Ces 3 régions "sensitivo-nerveuses" sont de l'avant vers l'arrière :

- la "région palpaire" (= cerveau antérieur) correspondant à "l'aire palpaire",

- la "région sincipitale" (= cerveau moyen) correspondant à "l'aire sincipitale" marquée par la présence d'yeux et d'antennes,

- la "région nucale" (= cerveau postérieur) correspondant à "l'aire nucale".

Cette conception de 3 parties distinctes dans le cerveau des Annélides Polychètes, indépendante de toute notion segmentaire, a été admise par Bullock et Horridge (1965) qui, dans leur ouvrage, précisent que les différentes régions du cerveau peuvent être en gros définies par les centres et les racines nerveuses que chaque partie contient typiquement. Ainsi, le cerveau antérieur renferme les centres palpaires et stomodéaux ainsi que les racines antérieures des connectifs périoesophagiens, le cerveau moyen

est caractérisé par les centres antennaires et optiques ainsi que par l'origine des racines postérieures des connectifs périoesophagiens, le cerveau postérieur enfin ne renferme que les centres nucaux.

L'étude topographique du cérébroïde et des organes sensoriels prostomiaux que nous avons effectuée (Manaranche 1966) et que nous reprenons ci-dessous sous une nouvelle forme peut-elle conduire à adhérer à telle ou telle hypothèse ? Il convient tout d'abord d'en décrire les résultats, de les comparer à ceux obtenus antérieurement par divers auteurs, et d'estimer enfin ce que des travaux récents d'embryologie peuvent apporter comme arguments.

B - TECHNIQUES MORPHOLOGIQUES

1° Microscopie optique

L'essentiel du travail morphologique a été effectué à l'aide des techniques de routine suivantes : Azan, Masson, Hémalun-picro-indigo-carmin. Le fixateur de Duboscq-Brasil nous est apparu comme le plus approprié à cette partie de notre étude.

L'étude histochimique nous a conduit à mettre en oeuvre :

- la technique à la fuchsine-paraldéhyde selon Gabe (suivie du trichrome de Clark ou du picro-indigo-carmin) ainsi que l'hématoxyline-chromique de Gomori pour la mise en évidence de la neuro-sécrétion. Ces deux techniques étant précédées d'une fixation par le mélange de Halmi.

- les réactions de Hale, de Muller, le PAS selon Mac-Manus et le Bleu Alcian pour l'étude des muco-polysaccharides.

- le noir Soudan, après coupe au cryostat de tissu frais pour la mise en évidence des lipides.

Nous avons fait par ailleurs de très nombreux essais de techniques spécifiques du tissu nerveux.

Les techniques de Cajal, dont nous avons utilisé une vingtaine de variantes, se sont toujours soldées par un échec quasi-total.

Les techniques de Golgi et de Gros-Bielchowsky nous ont permis de colorer parfois quelques neurones.

La technique de Gros-Schultze nous a fourni quelques très bonnes imprégnations, les résultats en furent malheureusement inconstants. (fig. 4).

La technique de Bodian au protargol, dont nous avons utilisé plusieurs variantes, a toujours abouti à des résultats que nous avons jugé insuffisants pour le but que nous nous proposions.

Le bleu de méthylène, utilisé à saturation dans l'eau de mer et, le plus souvent, au froid pendant plusieurs heures, nous a fourni de bonnes images des trajets nerveux périphériques. Il s'est avéré parcontre tout à fait inutilisable pour le système nerveux central, en raison sans doute du barrage qu'opposent à sa pénétration les épaisses gaines qui l'entourent.

Finalement c'est la technique proposée par Palmgren (1955) et spécialement son procédé C qui nous a permis une étude topographique correcte, grâce à l'obtention de coupes sériées dont tous les éléments étaient suffisamment bien imprégnés par l'argent pour nous permettre d'individualiser les amas cellulaires, d'en dénombrer les éléments constitutifs et de suivre leurs prolongements.

Cette technique, dont nous rappellerons les temps successifs nous a donné les meilleurs résultats après une fixation de 2 à 3 jours dans le mélange suivant :

Formol du commerce	10 cc
Alcool 95°	45 cc
Acide acétique glacial	2 cc

Il nous a semblé avantageux d'utiliser du matériel fraichement fixé. Une épaisseur de coupe de 7 à 10 µ nous a paru la plus favorable pour le matériel qui nous intéresse.

Des essais effectués sur certains Mollusques (Aplysia, Octopus) nous permettent d'envisager l'extension à d'autres embranchements des études morphologiques par cette méthode.

Telle que nous l'avons utilisée la méthode de Palmgren comprend successivement les temps suivants :

1°- Déparaffinage et déshydratation jusqu'à l'alcool 95

2°- Bain de 3' à l'alcool 70° ammoniaqué (100/5)

3°- Rinçage eau du robinet et 2 bains d'eau distillée

4°- Bain de 5 à 10 min. dans NO_3Ag 15 % dans l'eau distillée à laquelle on ajoute 0,02 % de pyridine

5°- Séchage au papier filtre

6°- Réduction 1 à 2 min. dans pyrogallol 0,1 % dans l'alcool 55°, au bain marie chauffé à 45°C. Une portion fraîche du mélange réducteur est utilisée pour chaque lame, que l'on agite doucement dans le bain.

7°- Rinçage à l'alcool 55° puis dans 3 bains d'eau distillée (1 min. pour chaque bain)

8°- Virage au chlorure d'or acétifié à 0,5 %. Les coupes doivent prendre une couleur grise.

9°- Rinçage et traitement par l'acide oxalique 2 % pendant 30 secondes environ.

10°- Rinçage et passage à l'hyposulfite de Na 5 % pendant 5 à 10 secondes.

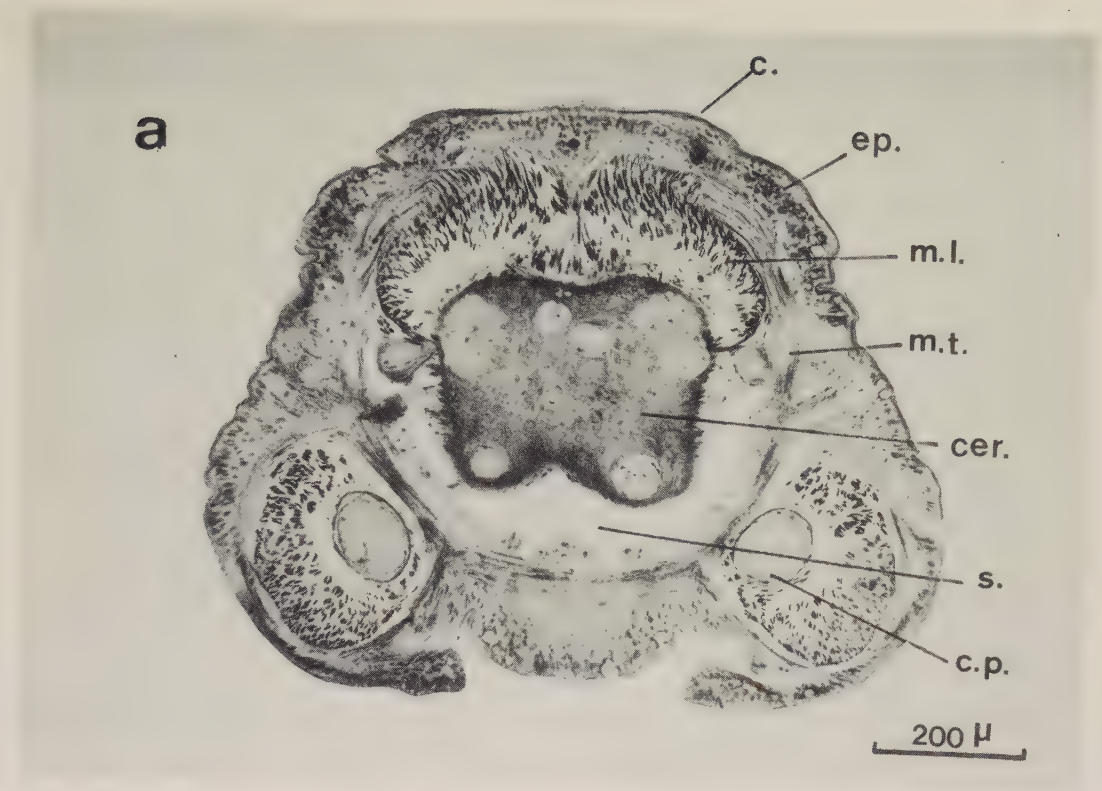
11°- Lavage, déshydratation et montage au baume du Canada.

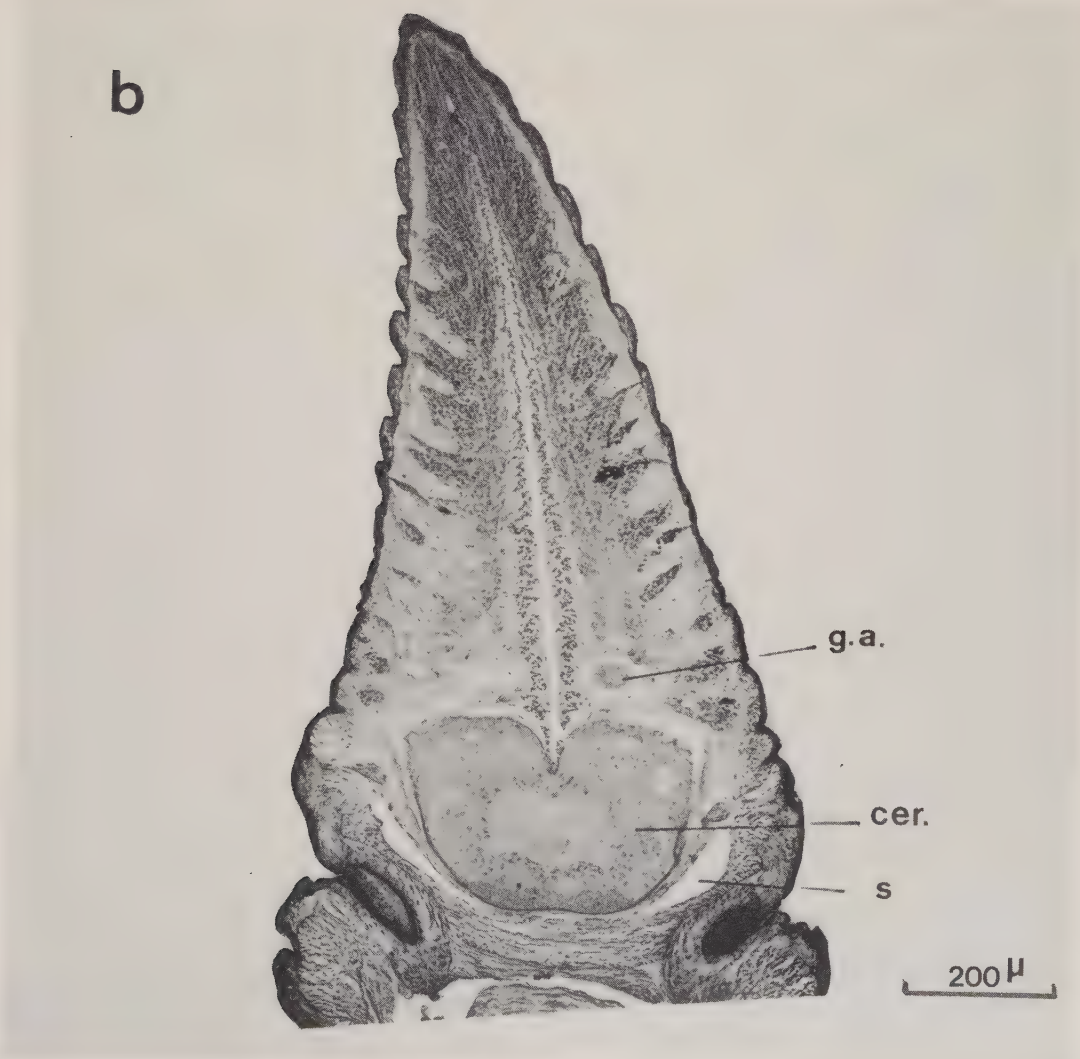
2° Microscopie électronique

Après de très nombreux essais de divers fixateurs, où nous avons fait varier la concentration en glutaraldéhyde et la nature comme la molarité du tampon, il nous est apparu qu'une concentration de glutaraldéhyde de

FIG. 1 - Glycera convoluta: Coupes transversale (a) et frontale(b) du prostomium au niveau du ganglion cérébroïde.

c: cuticule, cer.: ganglion cérébroïde,c.p.: collier périoesophagien, e: épiderme, g.a.:ganglion annexe, m.l.: musculature longitudinale, m.t.: musculature transversale, s.: sinus.


a
c.
ep.
m.l.
m.t.
cer.
s.
c.p.
200 µ


b
g.a.
cer.
s
200 µ

6,25 % dans un tampon cacodylate 0,4 M à pH 7,2 nous donnait les résultats les plus constants. Ce fixateur est légèrement hypertonique au milieu intérieur de G. convoluta dont nous avons mesuré l'osmolarité du liquide coelomique avec un Osmomètre qui nous a donné un résultat moyen de 1210 milliosmoles. Après une fixation de 2 à 3 h au glutaraldéhyde nous effectuons un lavage de quelques minutes au tampon cacodylate, additionné de saccharose pour équilibrer l'osmolarité du gluta raldéhyde, puis une post-fixation de 1 à 2 h au tétroxyde d'osmium 2 % dans le même tampon cacodylate. Nous avons toujours utilisé l'Araldite comme substance d'inclusion. Une double coloration acétate d'uranyle, citrate de plomb a été pratiquée en routine. Nos observations ont été effectuées sur divers microscopes : Hitachi 7, RCA EMU 3, Philips 300, Siemens Elmiskop IO2.

C - ANATOMIE DU GANGLION CEREBROIDE

Le ganglion cérébroïde des Glyceridae est profondément enfoncé dans l'épaisseur du prostomium (fig 1a). Dorsalement il est surmonté d'une couche de muscles longitudinaux pouvant atteindre 200 µ d'épaisseur ; quelques fibres musculaires transversales sont interposées entre cette musculature longitudinale et l'épiderme unistratifié recouvert lui-même d'une cuticule. Ventralement, un vaste sinus où circule le liquide coelomique sépare le cérébroïde des couches musculaires et épithéliales. Les muscles longitudinaux ne sont présents à la face ventrale du prostomium qu'en position tout à fait latérale, où ils entourent les branches du collier péri-oesophagien.

En vue dorsale (fig. 1b) le ganglion cérébroïde se présente, chez Glycera convoluta sous la forme d'une masse grossièrement ovoïde, bilobée vers l'avant. Chez un individu adulte, le grand axe de cette structure mesure au maximum 500 µ, cependant que lepetit axe n'excède pas 250 µ ; l'épaisseur de l'ensemble ayant approximativement 400 µ. La masse principale du cérébroïde est flanquée antérieurement de 2 ganglions annexes de forme sphérique de 100 µ de diamètre.

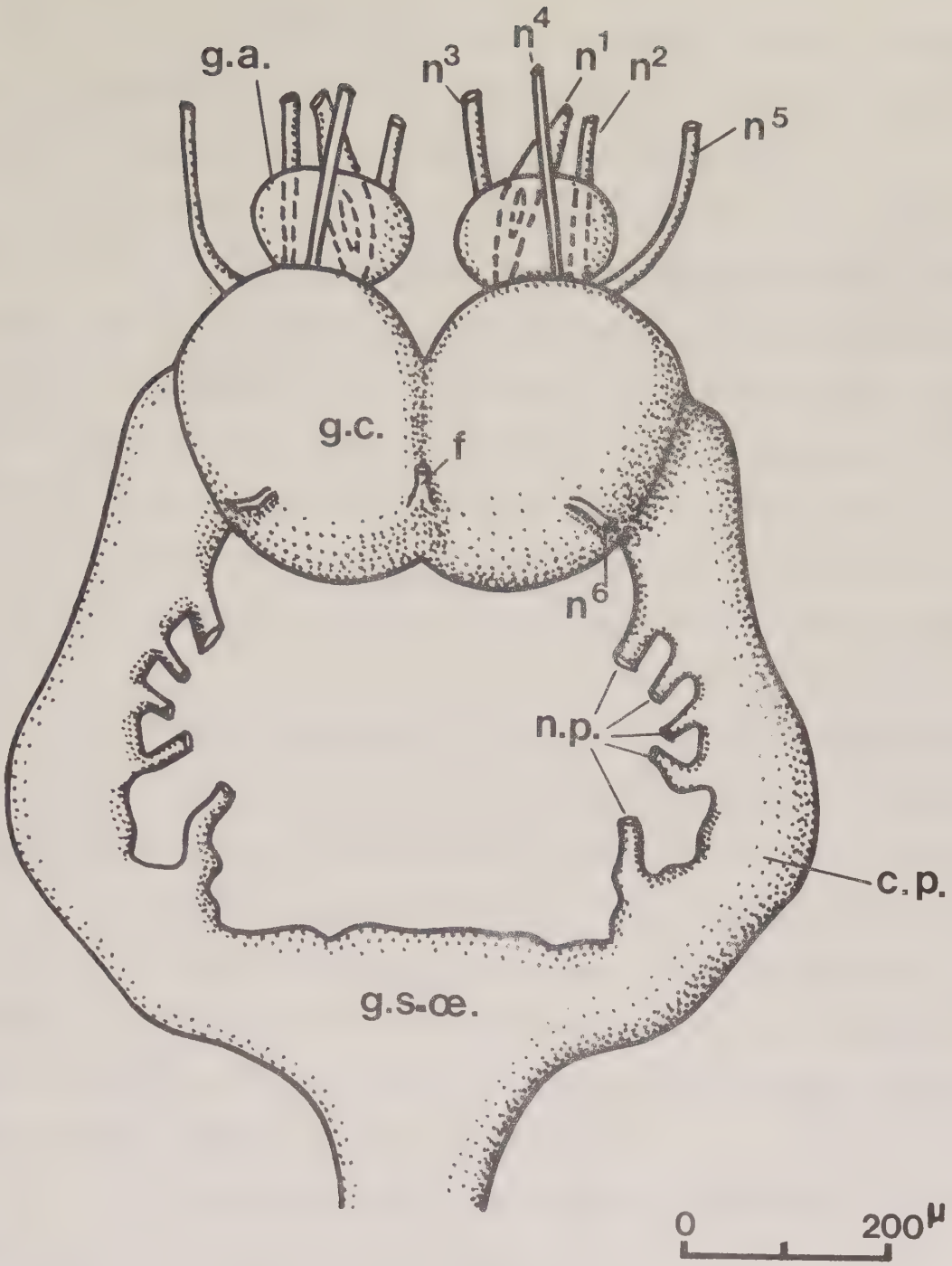


fig. 2 - Ganglion cérébroïde, collier péri-oesophagien, ganglion sous-oesophagien et nerfs associés à ces structures chez Glycera convoluta .

c.p.: collier péri-oesophagien; f.: fibre hyaline; g.a.: ganglion annexe du cérébroïde; $g.c_{.}$: ganglion cérébroïde; g.s-oe.: ganglion sous-oesophagien; n^{1} à n^{6}: nerfs issus du cérébroïde; n.p.: nerfs proboscidiens.

Dorsalement une fibre hyaline, issue de l'appareil sacculaire, décrit ci-dessous, relie le cérébroïde à l'épiderme après avoir traversé l'épaisse couche musculaire qui sépare ces deux structures.

Les deux branches du collier péri-oesophagien se détachent latéro-ventralement du cérébroïde et vont se rejoindre en position médio-ventrale pour constituer le ganglion sous-oesophagien qui se continue par la chaîne nerveuse ventrale. Sur le trajet de ce collier se détachent 5 paires de nerfs (fig. 2) allant innerver les organes bucaux et notamment la trompe, richement pourvue de papilles sensorielles (Bantz et Michel 1972).

Du cérébroïde partent 6 paires de nerfs qui vont innerver les différentes structures prostomiales. Vers l'avant se détachent de chaque côté :

- 2 nerfs antennaires (n^1 et n^2) qui traversent le ganglion annexe et qui, après avoir parcouru tout au long du prostomium un trajet rectiligne, aboutissent aux petites antennes situées à l'extrémité de celui-ci.

- 3 nerfs, passant, 1'un sous le ganglion annexe (n^3), 1'autre, plus fin (n^4), dorsal par rapport à cet organe, le 3me enfin quittant le cérébroïde en position latérale (n^5). Ces 3 nerfs sont en relation avec les 3 séries d'amas cellulaires distribués tout au long du prostomium, en position respectivement, ventrale, dorsale, et latérale.

- 1 nerf postérieur (n^6) se dégage dorso-latéralement du cérébroïde pour atteindre 1'organe nucal du même côté.

En différents points, à la périphérie du cerveau, les coupes histologiques permettent de constater la présence, en position inconstante, de petits filets nerveux se dirigeant vers le tégument.

D - ETUDE HISTOLOGIQUE

Nous avons étudié, avec les techniques de la microscopie optique rappelées ci-dessus (cf Techniques morphologiques) l'anatomie du ganglion cérébroïde, ainsi qu'accessoirement celle de la chaîne nerveuse ventrale, y

compris le ganglion sous-oesophagien.

1° - LE GANGLION CEREBROIDE

L'étude du ganglion cérébroïde a porté successivement sur :

- la capsule enveloppante
- les neurones géants
- les nucleus (terme que nous avons préféré à celui de "noyau" pour éviter toute ambiguïté en cytologie)
- les tractus et commissures
- les organes sensoriels prostomiaux.

a - La capsule enveloppante

Une grande confusion de vocabulaire règne encore en ce qui concerne les structures enveloppantes du système nerveux central des Invertébrés. Nous avons adopté la terminologie proposée par Bullock et Horridge (1965) dans leur ouvrage général sur le système nerveux des Invertébrés. Ces auteurs, prenant en considération surtout les Arthropodes, désignent par enveloppe externe (outer sheath) l'ensemble des gaines qui recouvrent le système nerveux central. Cette enveloppe externe se subdivise en une couche externe acellulaire ou neurilemma et une couche interne ou perilemma qui se distinguent par ses affinités tinctoriales différentes de la glie profonde.

La cérébroïde de G. convoluta est effectivement revêtu d'une couche anhiste épaisse de 2 à 4 µ, qui prend les colorants habituels du tissu conjonctif quand elle est traitée par les techniques histologiques courantes. Les techniques argentiques que nous avons utilisées fontapparaître dans la zône interne de ce neurilemma un feutrage de fibres que la microscopie électronique permet sans peine de reconnaître, comme étant composées de collagène. De petits noyaux allongés s'observent ça et là contre la limite interne du neurilemma.

Le perilemma, constitué par une épaisse couche de cellules jointives très contournées, peut atteindre 30 µ d'épaisseur en certains endroits.

Des colorations au P.A.S., avec et sans digestion salivaire, montrent l'abondance de glycogène au niveau du perilemma.

Le noir Soudan met en évidence la richesse en inclusions lipidiques de cette assise cellulaire, dont le rôle physiologique est tout spécialement important pour le tissu nerveux totalement dépourvu d'irrigation chez les Glyceridae.

b - Les neurones géants

La présence de cellules nerveuses de grande taille dans le ganglion cérébroïde de G. convoluta a été déjà signalée par Gravier (1898), qui n'en précise ni le nombre, ni la taille. Hanström (1927) n'a, semble-t-il, repéré qu'une seule paire de neurones géants en position postéro-ventrale. Ces deux auteurs mettaient cependant en relation ces cellules avec les fibres géantes de la chaîne nerveuse ventrale, alors que Nicol (1948) ne pouvait établir de rapport entre neurones et fibres géantes.

L'étude en coupes sériées, coloriées selon la technique de Palmgren, nous a permis (Manaranche 1966) d'observer la présence, en position constante, de 4 paires de neurones géants dans le ganglion cérébroïde de l'animal étudié. La fig. 3 en indique la position schématique, en projection sur un même plan transversal. La paire dorsale N_1- N'_1 ainsi que la paire ventrale N_2- N'_2 étant en position postérieure, les 2 paires ventrales N_3- N'_3 et N_4- N'_4 se situant au contraire en position antérieure. Ces 8 cellules ont un corps cellulaire globuleux dont le diamètre varie de 35 à 55 µ. La dimension la plus petite correspondant à la paire postéro-dorsale N_1- N'_1 la plus grande à la paire postéro-ventrale N_2- N'_2.

Les axones d'assez grand diamètre (5 µ) émanant des paires N_1- N'_1 et N_2- N'_2 se croisent dans le plan sagittal pour atteindre les racines du collier péri-oesophagien du côté opposé à celui où sont situés les corps cellulaires. Au contraire, les axones des 2 paires antéro-ventrales N_3- N'_3

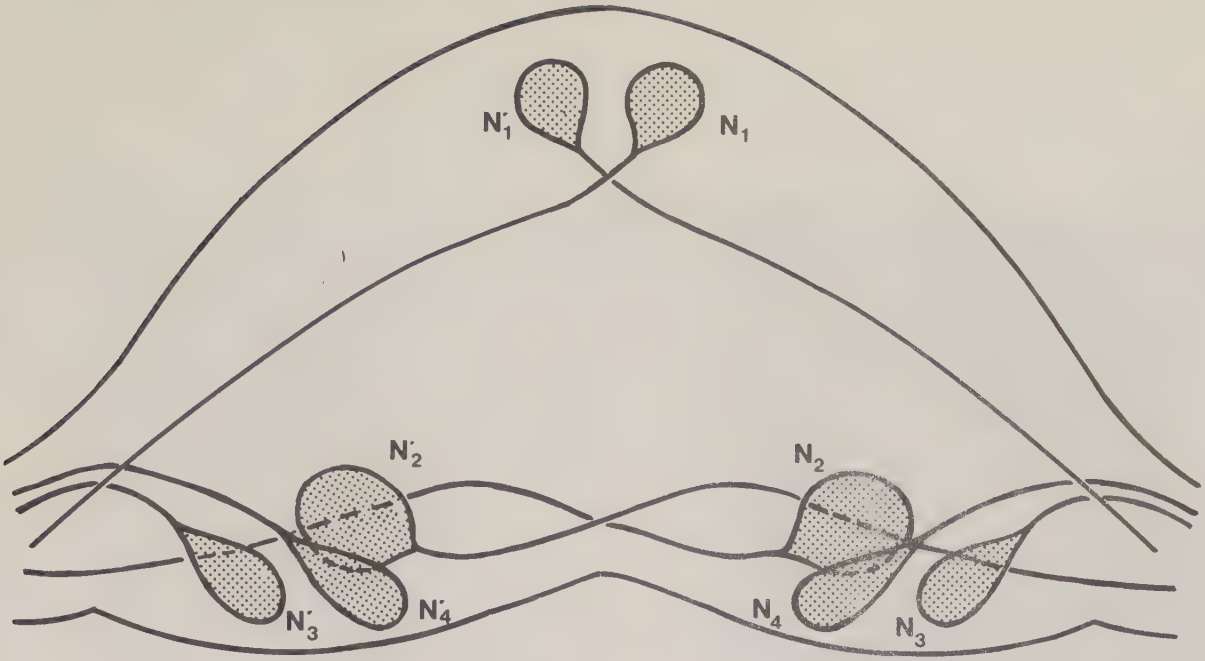


fig. 3 - Disposition schématique des neurones et des axones géants dans le cérébroïde .

---

et N_4 - N'_4 gagnent la branche du collier péri-oesophagien la plus proche de leur origine.

La microscopie optique ne permet d'observer (fig. 4b) qu'une étroite proximité entre les fibres issues des neurones géants N_1 - N'_1 et N_2 - N'_2 au point où elles se croisent. Nous n'avons pas réussi à vérifier en microscopie électronique la présence d'une synapse au point de décussation. Deux autres exemples, à notre connaissance, de décussation de fibres géantes ont été signalées dans le ganglion cérébroïde d'Annélides Polychètes : chez un Sabellidae, Myxicola (Nicol 1946) et chez un Serpulidae Protula (Bullock 1953). Dans ce dernier cas seulement l'auteur a pu mettre en évidence, et seulement physiologiquement, l'existence d'une synapse "en passant" de type axo-axonique.

fig. 4 - Coloration de Gros-Schultze.

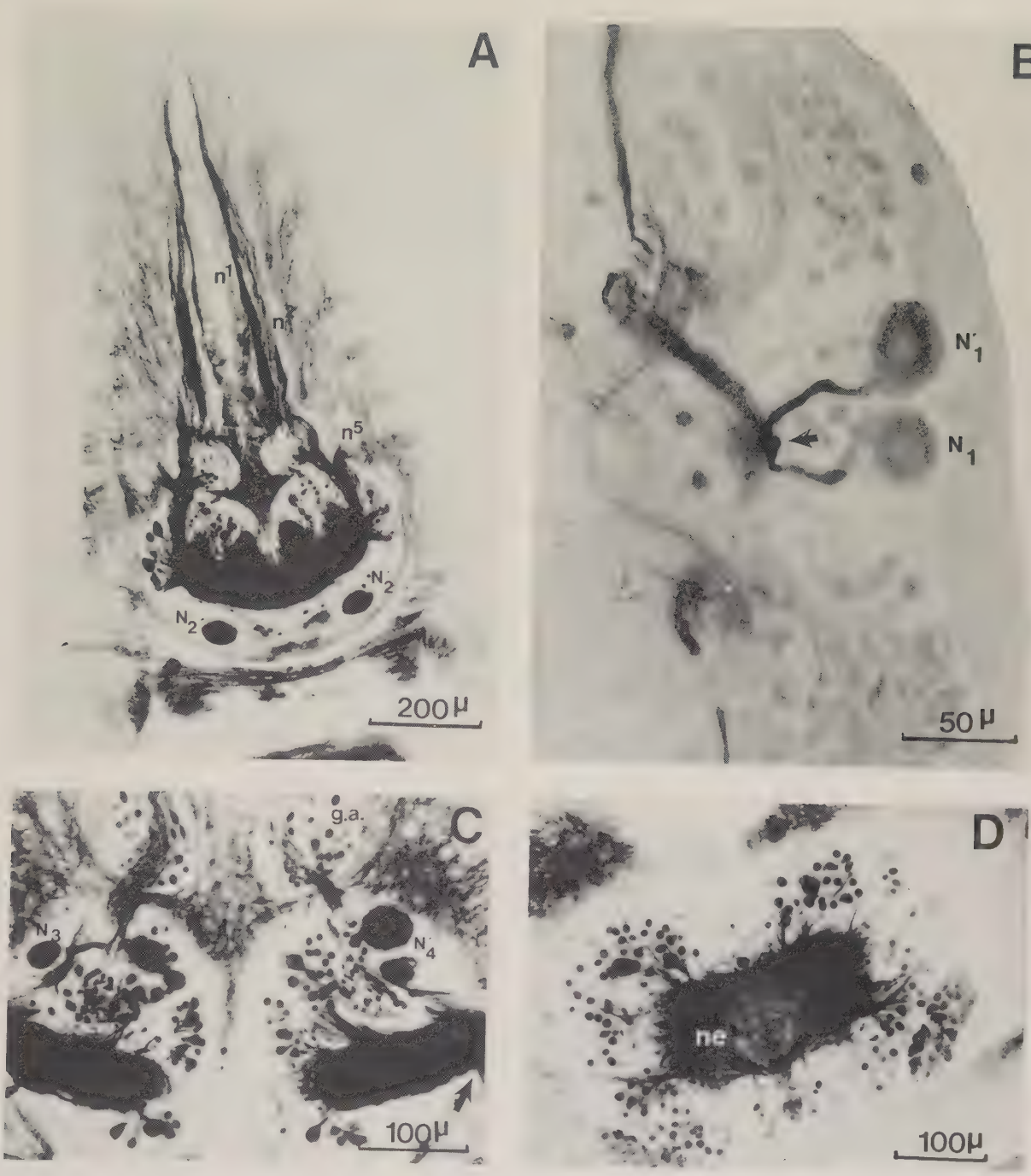
A) coupe frontale du prostomium x85;

B) coupe transversale du cérébroïde au niveau des neurones géants N_I et N'_I (Observez la décussation des axones de N_I et N'_I x350.

C) coupe transversale du cérébroïde au niveau des racines du collier péri-oesophagien, xI70.

D) coupe frontale du cérébroïde au niveau du neuropile, x I40

$N_I, N'_I, N_é, N'_2, N_3, N'_4$: neurones géants; n^1, n^2, n^5: nerfs cérébraux;
g.a. : ganglion annexe, ne.: neuropile.


A
n1
n
n5
N2
N2
200 µ
B
N1
N1
50 µ
C
g.a.
N3
N4
100µ
D
ne
100µ

c - Les Nucleus

Une exacte détermination des noyaux ganglionnaires composant un organe tel que le cérébroïde que nous avons étudié est une entreprise toujours délicate, en raison de l'enchevêtrement des fibres émanant des divers groupes cellulaires. Une coloration argentique totale, à la fois des fibres et des corps cellulaires, et une étude dans les 3 plans de l'espace de la totalité des coupes sériées, sont à notre avis les deux conditions indispensables à remplir, pour mener sinon à bien, du moins avec un maximum de risques d'erreur, une étude neuro-anatomique de ce type.

La technique de Palmgren que nous avons utilisée dans les conditions rappelées ci-dessus (cf p.8) nous a permis d'obtenir des préparations très lisibles. Les reconstructions partielles, contrôlées dans les plans frontaux, sagittaux et transversaux nous ont mis sans doute à l'abri des plus graves erreurs de détermination. Il n'en demeure pas moins que des fautes de détail peuvent subsister dans un travail de ce genre. Nous avons retenu comme unique critère pour décider de la définition d'un nucleus, le fait que toutes les cellules le composant doivent avoir leurs axones qui convergent en un faisceau unique avant de se confondre dans la masse centrale du neuropile.

Nous avons ainsi pu déterminer 17 nucleus (ou noyaux ganglionnaires), étant bien entendu que les images illustrant ce travail, toutes prises dans le plan frontal, ne peuvent suffire à elles seules pour définir avec exactitude tel ou tel groupe cellulaire. Le rapprochement de ces microphotographies avec celles publiées antérieurement (Manaranche 1966) permet de vérifier la réalité de certaines structures que nous allons maintenant décrire.

Nucleus I (fig. 5 c, d et fig. 6 a, b, c, d)

Composé d'une soixantaine de neurones de dimensions : 7-15 µ x 15-30 µ *, ce nucleus, situé en position postéro-dorsale a une forme

* Les dimensions approximatives des corps cellulaires que nous indiquons tout au long de cette description concernent pour le (ou les) premier chiffre, la (ou les) dimension du grand axe du corps cellulaire, pour le (ou les) second, celle du petit axe de ces cellules monopolaires, presque toujours piriformes.

fig. 5 - Coupes frontales successives, du plan dorsal au plan ventral du ganglion cérébroïde .

Coloration de Palmgren . × 260

Légende commune aux fig 5,6,7 et 8

Les chiffres romains I à XVII désignent les nucleus I à XVII, N_1 à N_4: neurones géants, n^1 à n^6 : nerfs provenant du cérébroïde, a_1 : axones de N_1, a.s. : appareil sacculaire, c.p.: collier péri-oesophagien, f.p.: fente coelomique prostomiale, g.a.: ganglion annexe

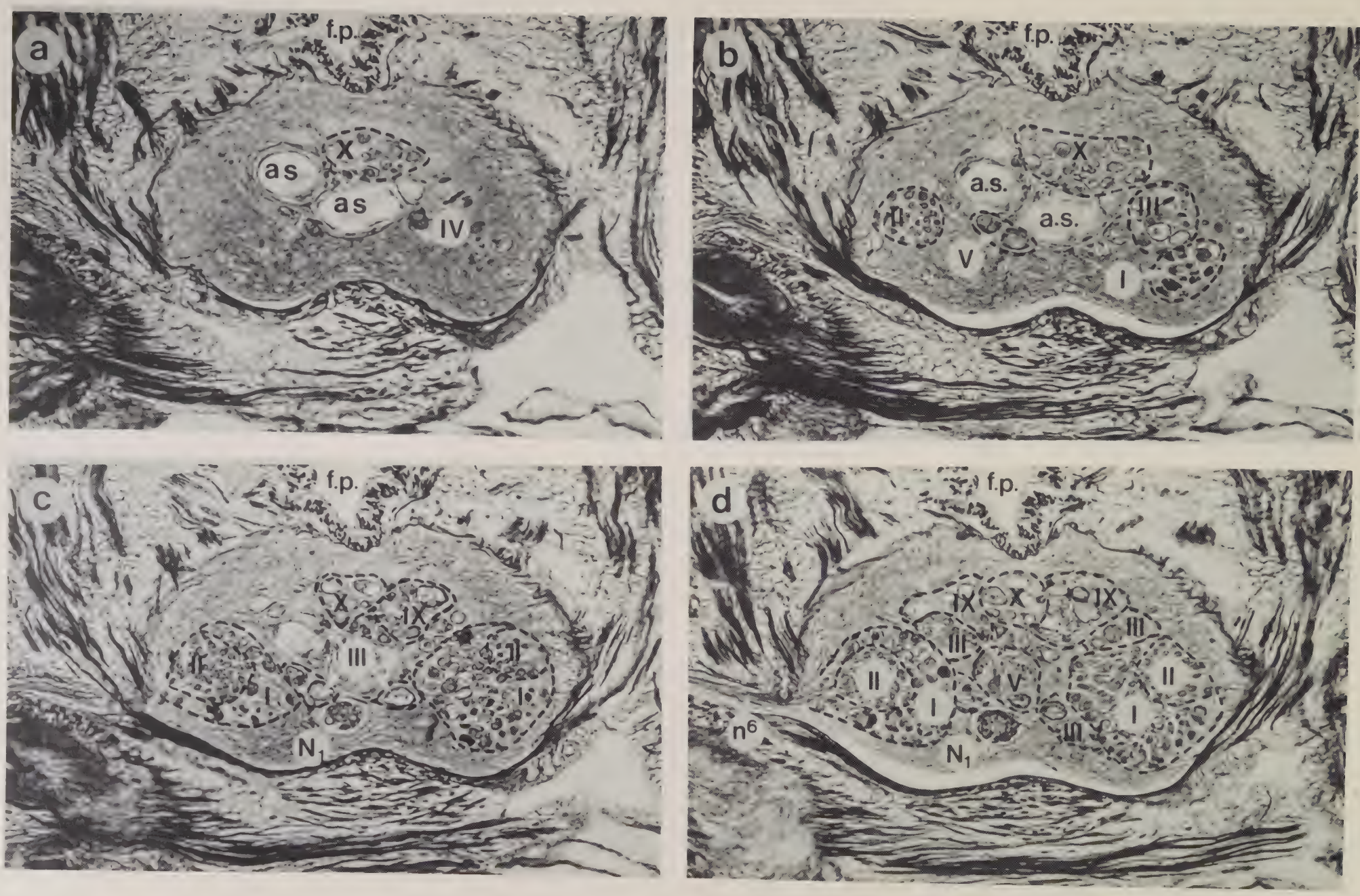
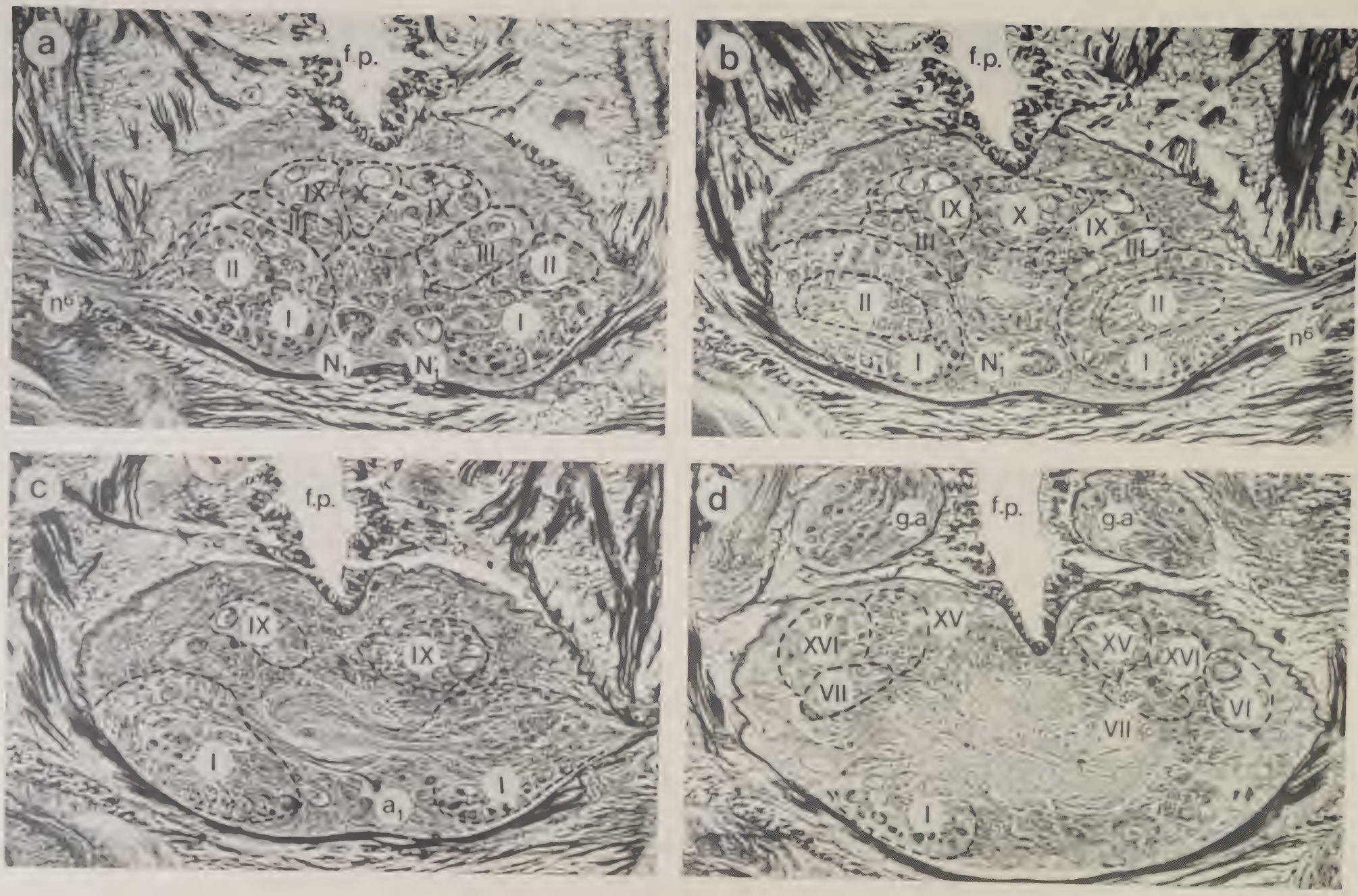

a
f.p.
as
X
as
IV
b
f.p.
X
a.s.
a.s.
III
II
V
I
c
f.p.
X
IX
III
II
I
I
N1
d
f.p.
IX
X
IX
III
III
II
II
V
I
I
n6
III
N1

fig. 6- Coupes frontales successives, du plan dorsal au plan ventral du ganglion cérébroïde (suite)


a
f.p.
IX
IX
II
III
II
I
I
n6
N1
N1
b
f.p.
IX
X
IX
III
III
II
II
I
I
N1
n6
c
f.p.
IX
IX
I
I
a1
d
g.a
f.p.
g.a
XV
XVI
XV
XVI
VII
VI
VII
I

grossièrement sphérique ; les axones convergent en un faisceau étroit constituant, au moins partiellement le nerf nucal n^6. La structure fine des cellules composant ce nucleus, de type photorécepteur (cf p.48) pose un intéressant problème que nous aborderons plus loin.

Nucleus II (fig. 5 b, c et d ; fig. 6 a et b)

Ce nucleus est constitué d'une centaine de cellules, de petite dimension (5 µ), de forme sphérique et au cytoplasme très réduit. Les axones, très fins, difficiles à suivre, convergent en un tractus transversal, situé dans le plan horizontal et qui se dirige vers la partie centrale du cérébroïde où il se confond avec la partie dorsale du neuropile, sans qu'on puisse s'assurer de la relation qui semble cependant exister entre les 2 nucleus droit et gauche. Les corps cellulaires sont rassemblés en un amas grossièrement sphérique, disposé concentriquement, au milieu du nucleus précédent.

Nucleus III (fig. 5 b, c et d ; fig. 6 a et b ; fig 7 a, b et c)

La soixantaine de cellules (7-15 µ x 15-30 µ) composant ce nucleus est disposée en éventail autour des nucleus I et II. Les axones convergent vers la commissure postéro-dorsale à laquelle ils semblent participer.

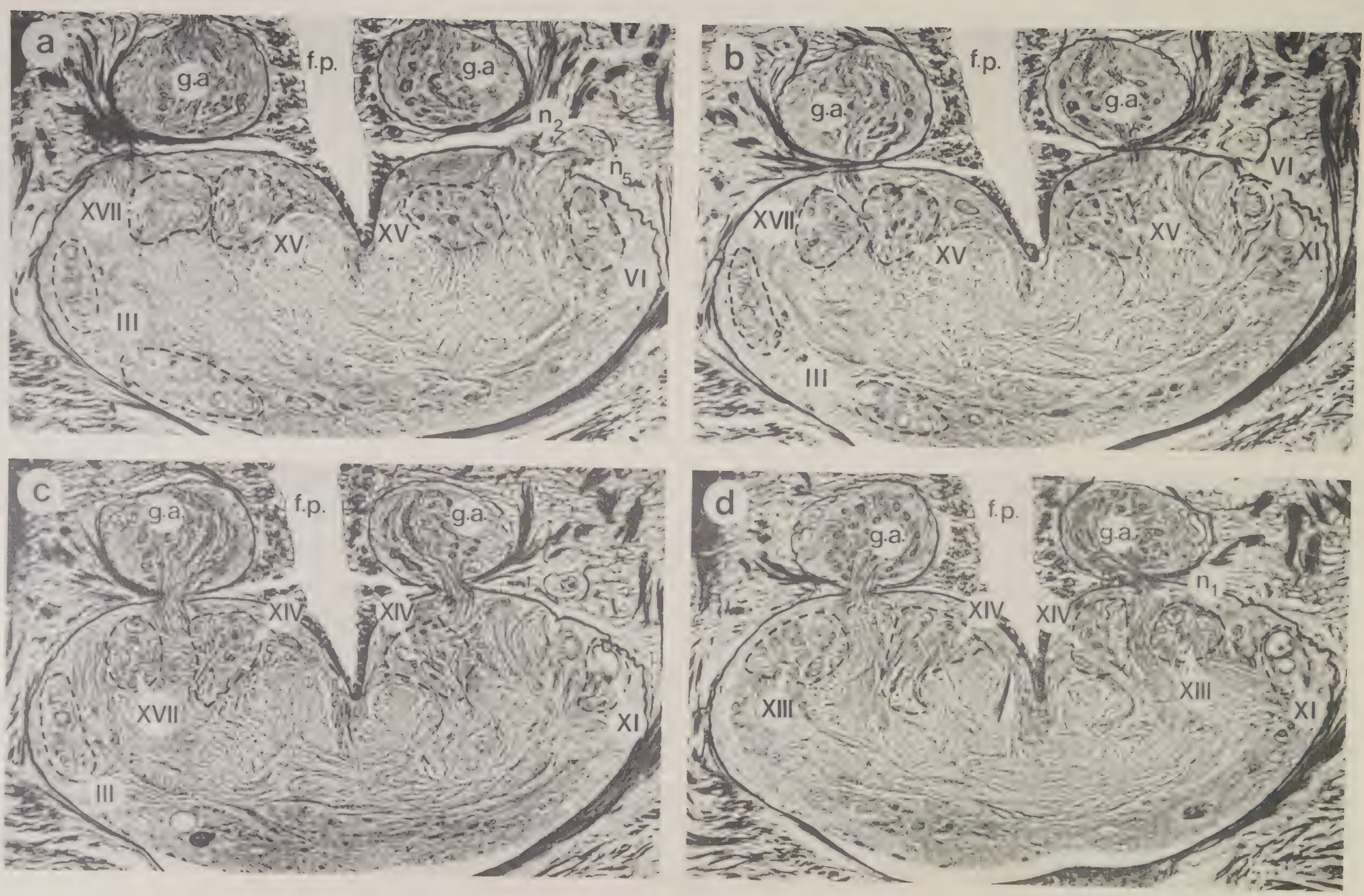
Nucleus IV (fig. 5 a)

Ce nucleus est constitué de 4 à 6 cellules de relativement grande taille (15 x 20 µ). Il est situé très latéralement et en position externe par rapport aux neurones géants N_1- N'_1. Les fibres géantes de ces neurones sont associées aux axones provenant de ce nucleus et participent avec eux à la commissure postéro-dorsale.

Nucleus V (fig. 5 b)

Composé d'une dizaine de cellules (10-15 µ x 15-20 µ) ce nucleus

fig. 7- Coupes frontales successives, du plan dorsal
au plan ventral, du ganglion cérébroïde (suite)


a
g.a
f.p.
g.a
n2
n5
XVII
XV
XV
VI
III
b
g.a.
f.p.
g.a.
VI
XVII
XV
XV
XI
III
c
g.a.
f.p.
g.a.
XIV
XIV
XVII
XI
III
d
g.a.
f.p.
g.a.
n1
XIV
XIV
XIII
XIII
XI

impair est situé dorsalement, entre les 2 éléments de l'appareil "sacculaire". Les axones qui en émanent, suivent un trajet dorso-ventral puis viennent se confondre, comme ceux du précédent nucleus dans la commissure postéro-dorsale.

Nucleus VI (fig. 6 d ; fig. 7 a)

En position latérale, situé au-dessus de la racine du collier péri-oesophagien, ce nucleus ne compte que 4 à 6 grandes cellules de 10-50 µ x 40-50 µ) et une trentaine de petits neurones de 10 x 15 µ. Les axones convergent vers la racine du collier péri-oesophagien située du même côté, avec laquelle ils se confondent.

Nucleus VII (fig. 6 d)

Comptant seulement une dizaine de neurones (5-7 µ x 15-20 µ) ce petit nucleus est voisin du précédent, interne par rapport à lui. Les fibres émanant des cellules qui le composent se confondent, après un trajet dorso-ventral, avec l'importante commissure ventrale qui, relie, à travers le cérébroïde, les deux racines du collier péri-oesophagien.

Nucleus VIII (fig. 8 d)

Ce nucleus composé de 20 à 30 cellules de 10-15 µ x 20-30 µ, est situé ventralement, en avant du neurone géant N_2. Ses axones participent, après un trajet ventro-dorsal, à la commissure ventrale.

Nucleus IX (fig. 5 c et d ; fig. 6 a, b et c)

Ce volumineux nucleus est composé de 60 à 70 cellules dont la taille varie de 10 x 15 µ à 20 x 30 µ. Les corps cellulaires sont disposés en éventail, dorsalement par rapport au neuropile ; les axones après un trajet dorso-ventral convergent vers la commissure dorsale antérieure, dont ils composent l'élément majeur.

Nucleus X (fig. 5 a, b, c et d ; fig. 6 a et b)

Situé entre les nucleus IX, droit et gauche, ce nucleus en position dorsale représente la seconde structure impaire de ce type, que nous rencontrons dans cette description du ganglion cérébroïde de G. convoluta. La dizaine de cellules de forme globuleuse de 10 x 15 µ qui le composent ont leurs axones qui se confondent dans le neuropile, après avoir parcouru un trajet dorso-ventral.

Nucleus XI (fig. 7 b, c et d ; fig. 8 a)

Composé de 5 à 10 cellules de tailles assez différentes (20 x 50 µ pour les plus grandes, 15 x 30 µ pour les plus petites) ce nucleus est situé en position externe par rapport au nucleus VI. Les axones convergent vers la partie dorsale du collier péri-oesophagien, en un point voisin de celui où la racine commune des nerfs antennaires n^2 et latéral n^5 se dégage de la commissure ventrale.

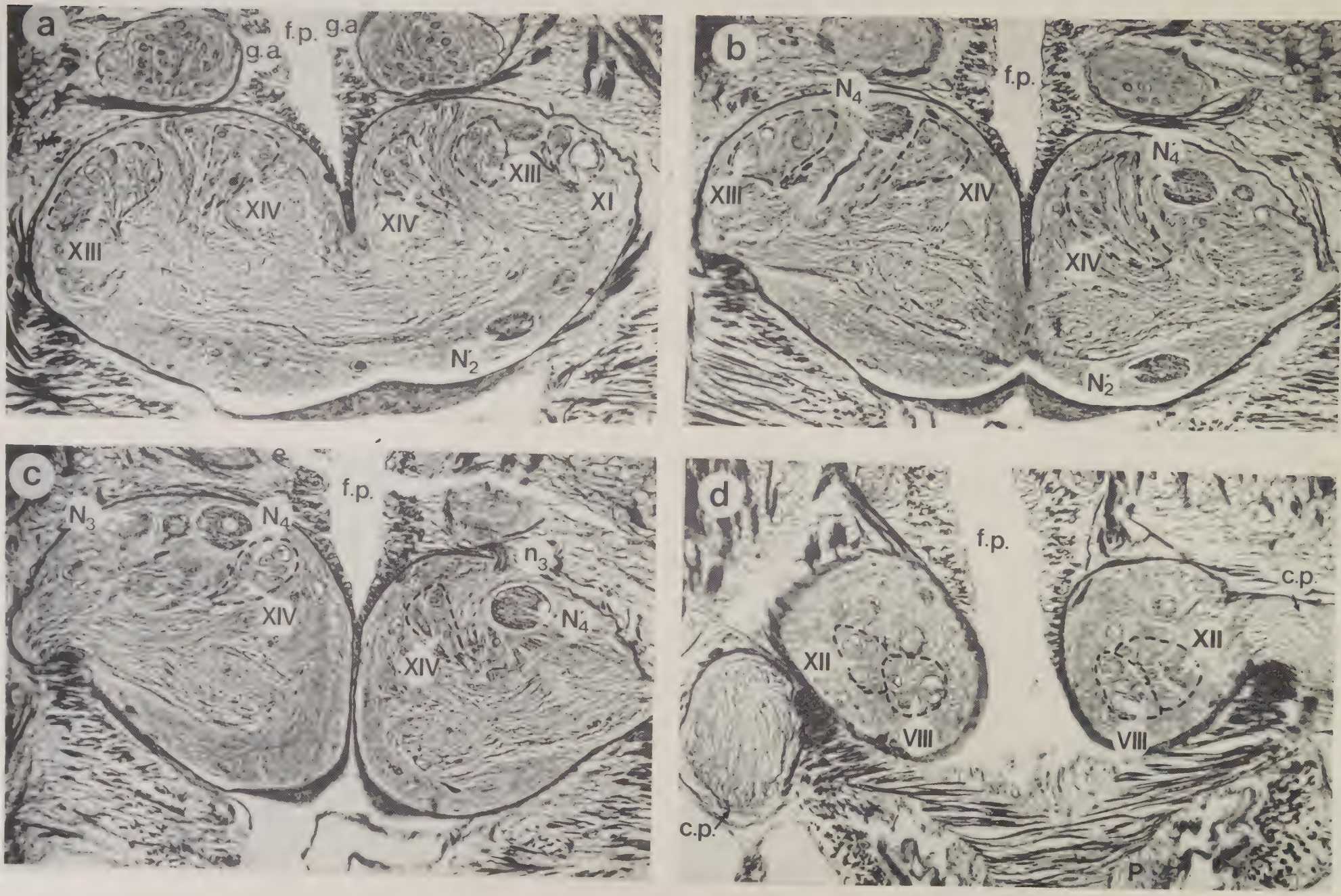
Nucleus XII (fig. 8 d)

Ce petit nucleus, composé de 10 à 15 cellules de 10 x 15 µ est situé ventralement, un peu au-dessus et en avant du nucleus VIII. Après avoir suivi un trajet ventro-dorsal presque rectiligne, les axones des cellules qui le composent viennent se confondre dans le neuropile au voisinage du point où la racine du nerf central n^3 s'individualise.

Nucleus XIII (fig. 7 d ; fig. 8 a et b)

Situé tout à fait ventralement en arrière des neurones géants N_3 et N_4 ce nucleus est composé de 20 à 30 cellules dont la grande majorité a pour dimensions 10 x 15 µ ; quelques unes atteignent 25 x 40 µ. Les axones qui émanent de ce groupe cellulaire se dirigent ventro-dorsalement vers le neuropile qu'ils atteignent en un point voisin de celui où le nerf antennaire n^2 s'en dégage.

fig. 8 - Coupes frontales successives, du plan dorsal au plan ventral, du ganglion cérébroïde (Suite)


a
g.a
f.p.
g.a
XIII
XIV
XIV
XIII
XI
N2
b
N4
f.p.
XIII
XIV
N4
XIV
N2
c
e
f.p.
N3
N4
n3
XIV
XIV
N4
d
f.p.
c.p.
XII
XII
VIII
VIII
c.p.
P

Nucleus XIV (fig. 7 c et d ; fig. 8 a, b et c)

Ce nucleus composé d'une trentaine de cellules (10-15 µ x 15-25 µ) occupe une position ventrale, voisine du précédent. Il s'en distingue nettement, en coupe transversale, grâce au trajet de l'ensemble de ses axones qui atteignent le neuropile en un point beaucoup plus interne, voisin de celui où le nerf n^1 commence à s'individualiser.

Nucleus XV (fig. 6 d ; fig. 7 a et b)

Ce nucleus situé dorsalement, entre le nucleus IX en arrière, et XIV en avant, se compose d'une trentaine de cellules de dimensions moyennes 10 x 15 µ. Les axones de ces cellules après un trajet dorso-ventral atteignent la commissure dorsale antérieure non loin du point où celle-ci rejoint la commissure ventrale.

Nucleus XVI (fig. 6 d)

Situé en position externe par rapport au précédent, ce noyau dorsal compte 20 à 30 cellules dont la plupart ont des dimensions voisines de 10 x 15 µ. Quelques unes, plus volumineuses, atteignent 20 x 30 µ. Les axones provenant de cet amas cellulaire se perdent dans le neuropile, après un trajet dorso-ventral. Il semble que les fibres issues de ce nucleus se mêlent à celles provenant du nucleus XIII pour participer au tractus du nerf antennaire n^1.

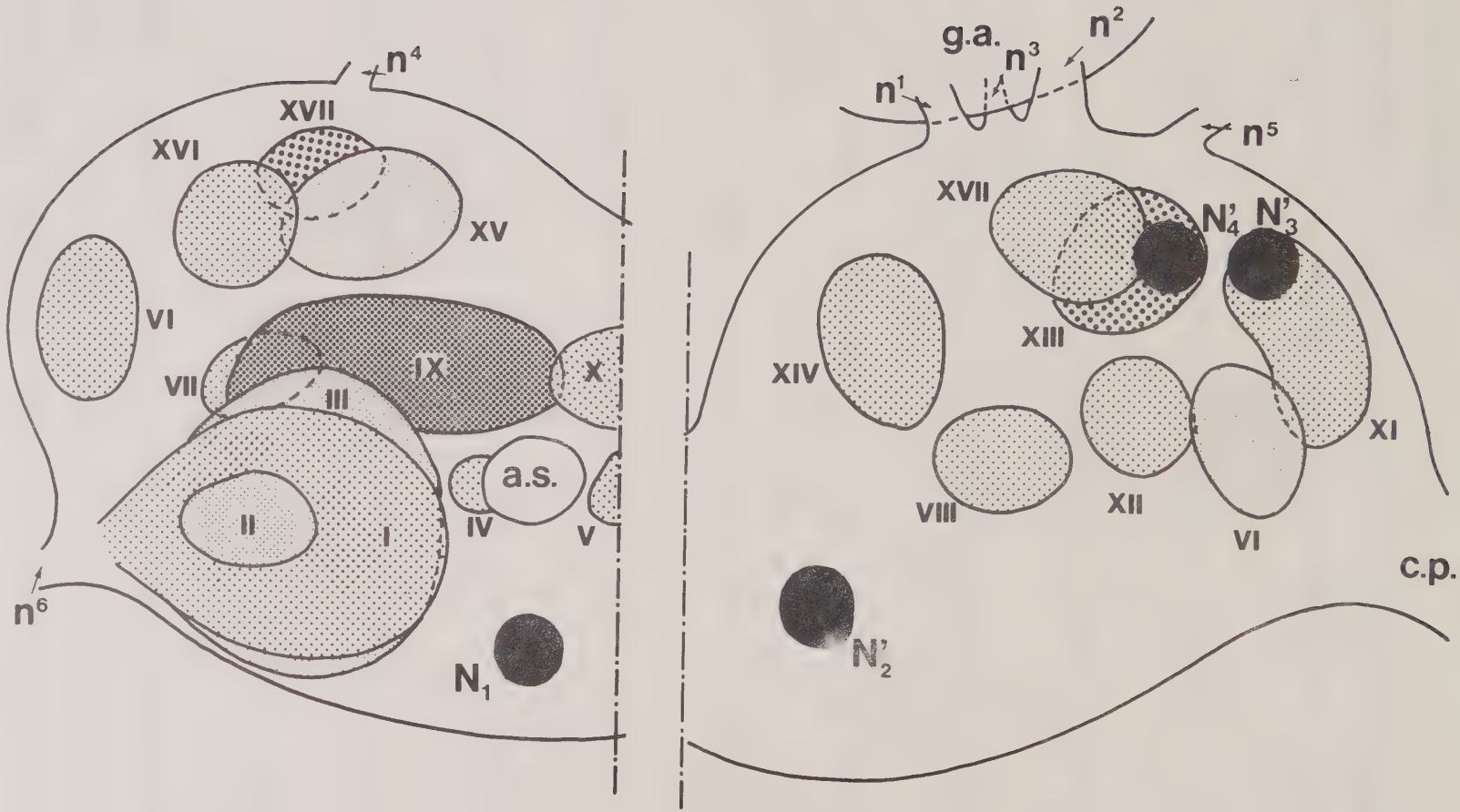
Nucleus XVII (fig. 7 a, b et c)

En position tout à fait antérieure, dorsale par rapport aux neurones géants N_3 et N_4, ce nucleus est composé de 25 à 30 cellules de taille moyenne 10-15 µ x 15-20 µ. Les axones provenant des cellules constituant ce nucleus convergent vers le point où les fibres du nerf latéral n_5 émergent du neuropile.

Les 17 nucleus (fig. 9) dont nous venons de rappeler la description ont en résumé les relations suivantes avec les nerfs cérébraux ainsi

fig. 9 - Représentation schématique des différentes structures décrites dans le ganglion cérébroïde (même légende que pour les figures 5 à 8).

La partie gauche de la figure schématise une coupe frontale et relativement dorsale sur laquelle ont été projetés les nucleus situés dorsalement; la partie droite schématise une coupe ventrale par rapport à la précédente, sur laquelle de la même manière ont été rapportés les nucleus en position plus ventrale.


n4
XVII
XVI
XV
VI
VII
IX
X
III
a.s.
II
I
IV
V
n6
N1
g.a.
n2
n3
n1
n5
XVII
N'4
N'3
XIII
XIV
XI
VIII
XII
VI
c.p.
N'2

qu'avec les tractus et commissures intercérébrales.

- le nucleus I participe sûrement, par un contingent important de fibres qui en émanent, au nerf nucal n^6
- le nucleus II fournit l'essentiel des fibres constituant la commissure transversale qui établit,très vraisemblablement, une relation, avec le nucleus correspondant du côté opposé.
- les nucleus III, IV et V fournissent l'essentiel des fibres qui composent la commissure postéro-dorsale.
- le nucleus VI fournit une partie des fibres de la racine du collier péri-oesophagien située du même côté.
- les nucleus VII et VIII participent, par les axones des cellules qui les composent,à la commissure ventrale.
- les nucleus IX et XV et probablement X, sont à l'origine des fibres qui constituent l'essentiel de la commissure antéro-dorsale.
- le nucleus XI est à l'origine du tractus commun aux nerfs antennaires n^1 et latéral n^5.
- le nucleus XII paraît être la source des fibres constituant le nerf ventral n^3.
- les nucleus XIII, XVI, et probablement XIV, participent à la formation des nerfs antennaires n^1 et n^2.
- le nucleus XVII enfin, semble fournir une partie des fibres du nerf latéral n^5.

Toutes les cellules ganglionnaires constituant les nucleus que nous venons de décrire sont du type monopolaire. On rencontre par ailleurs, dans la partie postéro-ventrale du cérébroïde, de petites cellules multipolaires disposées sans ordre apparent. Dans la partie antérieure du cerveau, à proximité des ganglions annexes, il n'est pas rare de trouver des cellules bi-polaires que nous verrons être abondantes dans ces ganglions annexes.

d - Commissures et tractus

La description des nucleus que nous avons trouvés dans le cérébroïde de G. convoluta, nous a conduit à évoquer le groupement de fibres provenant des cellules qui les composent en tractus et commissures, dont la figure 10 fournit le plan d'ensemble en coupe transversale.

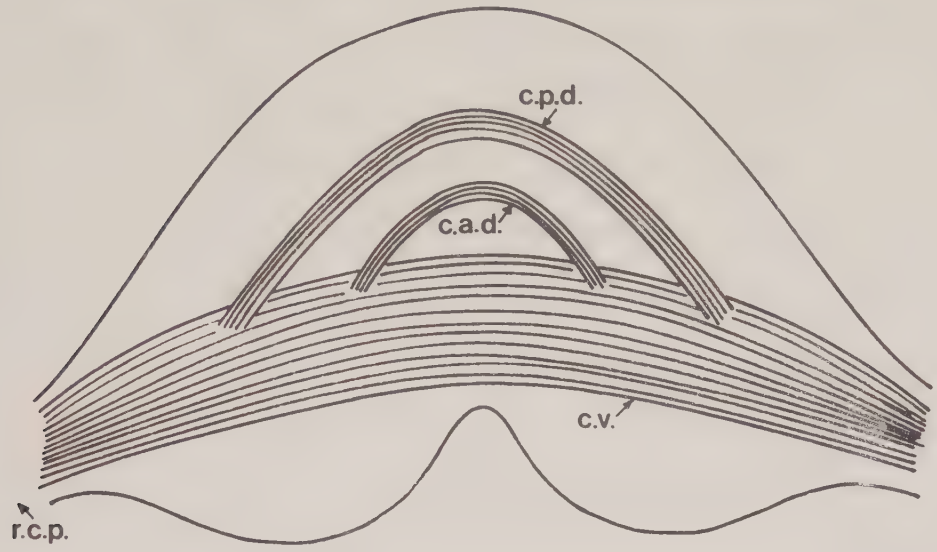


fig. IO - Représentation schématique des principales commissures du ganglion cérébroïde
c.a.d.: commissure dorsale antérieure, c.p.d.: commissure dorsale postérieure, c.v.: commissure ventrale, r.c.p.:racine du collier péri-oesophagien

---

On observe essentiellement :

- une puissante commissure transversale ventrale reliant les racines droite et gauche du collier péri-oesophagien.
- 2 commissures dorsales, l'une antérieure et l'autre postérieure qui viennent se raccorder à la précédente.

Les images des coupes frontales permettent d'observer, se dégageant de la masse confuse du neuropile, les tractus des nerfs antennaires n^1 et n^2, ventral n^3, dorsal n^4 et latéral n^5. Les racines des nerfs n^2 et n^5 s'isolent à partir d'un tractus commun.

Les coupes transversales sont au contraire les plus favorables pour observer le tractus du nerf nucal n^6, ainsi que la commissure transverse mettant, semble-t-il, en relation les nucleus II situés de chaque côté du cérébroïde.

e - Les ganglions annexes (fig. 6 d ; fig. 7 a, b, c et d ; fig. 8 a et b)

Nous avons signalé dans la description anatomique générale (fig. 2) ces 2 masses sphériques accolées à la partie antérieure du cérébroïde, d'environ 150 µ de diamètre. La capsule qui les enveloppe est en continuité avec celle du cérébroïde, et seuls les nerfs antennaires n^1 et n^2 les traversent. Autour et entre les fibres constituant ces nerfs sont disposées sans ordre, 150 à 200 petites cellules, pauvres en cytoplasme, dont le soma ne mesure guère plus de 5 µ dans sa plus grande dimension. Ces neurones sont, soit du type bipolaire, soit monopolaire ; les uns et les autres mêlent leurs axones aux fibres provenant du cérébroïde proprement dit.

f - L'appareil sacculaire

La structure intra-cérébrale ainsi dénommée par M. Simpson (1959), qui la première l'a décrite chez l'espèce américaine, G. dibranchiata (fig. 11) est un des caractères les plus curieux du ganglion cérébroïde des Glyceridae. Nous en avons pour notre part vérifié la présence chez G. convoluta et G. gigantea.

Dans la partie postéro-dorsale du cérébroïde (fig. 12) au niveau des neurones géants N_1 et N_1' et un peu en avant d'eux, on observe une paire de grandes vésicules creuses ou "sacs" (selon le terme adopté par Simpson) contenant sans aucun doute chez le vivant, un liquide que la fixation, selon sa nature, conserve plus ou moins bien. Chez certains animaux nous n'avons trouvé qu'un seul sac, mais jamais nous n'en avons observé 3 ou 4, comme on a pu l'observer chez l'espèce américaine. Les dimensions moyennes de ces sacs, de forme grossièrement ovoïde, sont de 70 µ pour le grand axe et de 40 pour le plus petit. La paroi semble être de nature conjonctive avec la participation d'éléments névrogliques.

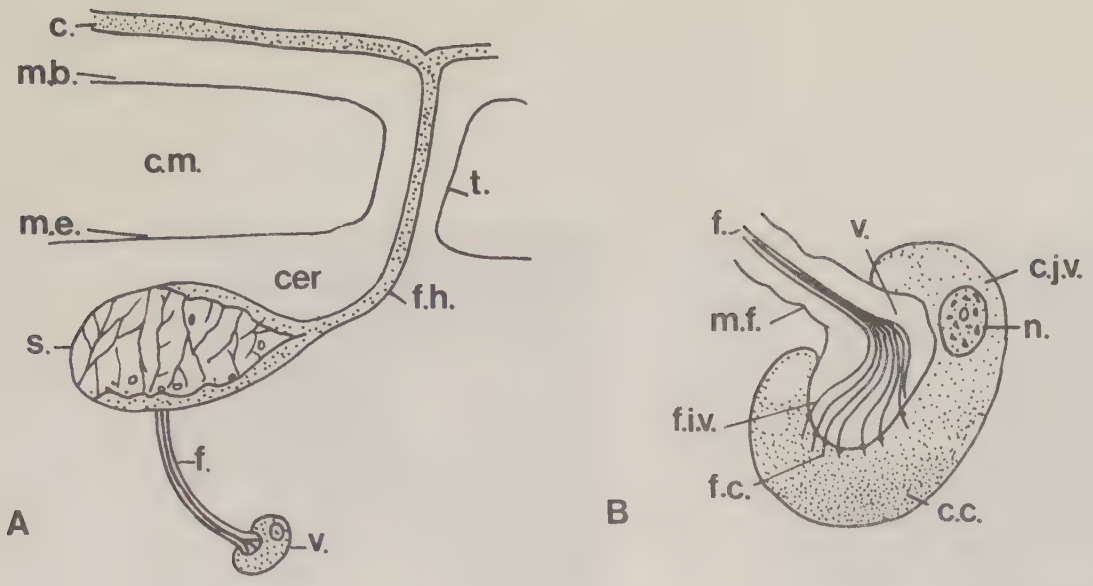


fig. II - Représentation schématique de l'appareil sacculaire de G. dibranchiata (d'après Simpson M. 1959).

A- Section sagittale de l'appareil sacculaire dans son ensemble

B- Détail de la vésicule.

c: cuticule, cc: concentration cytoplasmique, cer.: cérébroïde, c.j.v.: cellule juxta-vésiculaire, c.m.: couche musculaire, f: filament, f.c.: fibrilles cytoplasmiques, fh.: fibre hyaline, f.i.v.: fibrilles intra-vésiculaires, m.b.: membrane basale, m.e.: membrane encapsulante, m.f.: membrane du filament, n: noyau, s.: sac, t: tube, v: vésicule.

A la partie dorsale de chacun des sacs prend naissance une sorte de canal évacuateur ("fibre hyaline" de Simpson). Après un court trajet oblique, les canaux de chacun des 2 sacs confluent en un élément unique et médian, qui poursuit sa course vers l'épiderme dorsal après avoir traversé la capsule enveloppante du cérébroïde, et l'épaisse couche musculaire qui sépare celle-ci de l'épithélium tégumentaire. Arrivé au contact de la cuticule, ce canal débouche par un orifice percé à la surface de celle-ci. La "fibre hyaline", tout au long de son parcours, est limitée par une gaine qui est en continuité avec la membrane basale de l'épithélium.

Simpson a décrit chez G. dibranchiata un fin "filament" partant de la partie ventrale de chaque sac et aboutissant, chacun pour son propre compte, à une petite vésicule ciliée dont les dimensions sont 10-15 x 6-9 µ. Cette structure, de très petite dimension chez l'espèce européenne que nous avons

fig. I2 - Appareil sacculaire chez G. convoluta.

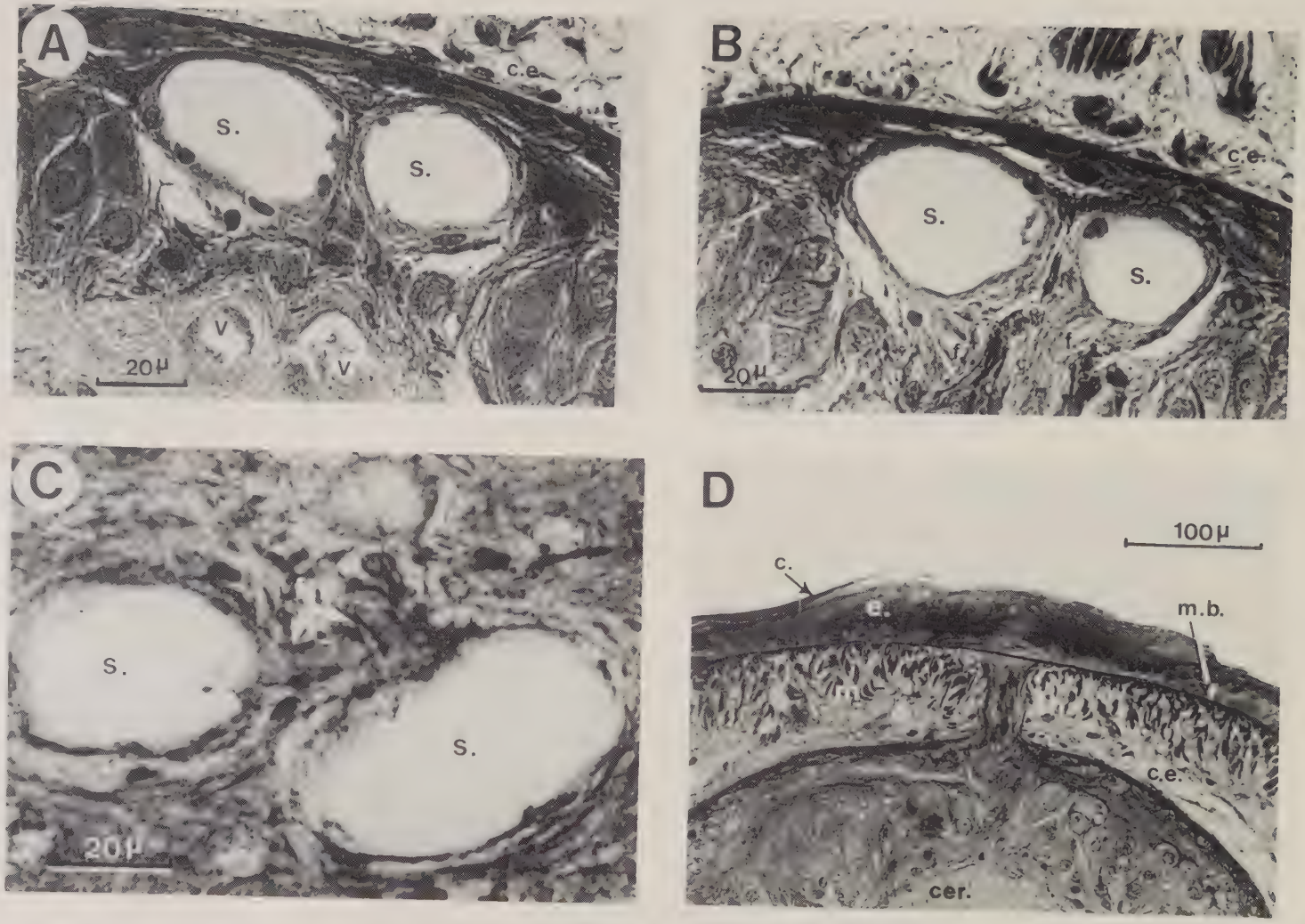
a) Coupe transversale du cérébroïde au niveau des sacs et des vésicules x650;

b) Coupe transversale du cérébroïde au niveau des sacs et des filaments x650;

c) Coupe frontale du cérébroïde au niveau des sacs et des fibres hyalines x870

d) Coupe transversale du cérébroïde au niveau de la fibre hyaline x200.

c.: cuticule; c.e.: capsule enveloppante du cérébroïde; cer.: cérébroïde; e.: épiderme; f.: filament; f.h.: fibre hyaline; m.: muscle; m.b.: membrane basale; s.: sac; v.: vésicule.


A
c.e.
S.
S.
V
V
20μ
B
c.e.
S.
S.
20μ
C
S.
S.
20μ
D
100μ
c.
e.
m.b.
c.e.
cer.

étudiée, est difficilement visible en microscopie optique sur des coupes colorées par exemple à l'Azan. Nous ne pouvons confirmer dans ses détails la description fournie par Simpson et dont la fig. 11 rappelle les grandes lignes. Il est certain au moins, qu'une structure ventrale ayant grosso-modo la même allure existe chez G. convoluta.

Les réactions histochimiques que nous avons pratiquées sur le contenu des "sacs" et sur la fibre hyaline : P.A.S. Bleu Alcian, Fer dialysé de Hale, réaction de Muller, fuchsine paraldéhyde, nous permettent de conclure que nous avons à faire à un mucopolysaccharide acide.

Au stade actuel de nos connaissances sur l'appareil sacculaire des Glyceridae, aucune explication satisfaisante ne peut être offerte quant à l'origine phylogénétique de cette structure, et à sa signification fonctionnelle. Ce n'est cependant pas le seul exemple connu chez les Invertébrés, de structures sécrétoires associées au système nerveux, indépendamment bien sûr des cellules neurosécrétrices.

Burfield (1927) a décrit chez le Chaetognathe Sagitta un organe pair en forme de massue, à activité sécrétoire dans la partie postéro-dorsale du cerveau. L'organe rétro-cérébral des Rotifères décrit par de Beauchamp (1909) présente également quelque analogie avec l'organe qui nous intéresse. Chez les Némertes, B. Scharrer (1941) a étudié un organe composé de cellules sécrétoires et ganglionnaires, situé à l'extrémité d'un canal épidermique invaginé, en connexion avec le cerveau. D'une position purement épithéliale qu'il occupe chez Carinella annulata (Anopla-Paleonemerte), cet organe se retrouve profondément enfoncé dans l'organisme chez les formes les plus évoluées de ce phyllum comme par exemple chez Lineus coccineus (Anopla Heterenémerte). Des situations intermédiaires se rencontrent dans le sous-Embranchement des Enopla, par exemple dans les genres Drepanophorus et Amphiporus. Chez les Polychètes enfin, on connaît chez les Nephthys, les lobes postérieurs du cerveau bien étudiés par Clark (1955). Il s'agit là encore de structures glandulaires,

sécrétant un muc opolysaccharide, en contact étroit avec le cerveau. Comme nous venons de le voir chez les Némertes, on retrouve à travers diverses espèces du genre Nephthys une migration vers la profondeur de ces structures, dont l'origine semble bien être épidermique.

Il est évidemment tentant d'établir un parallèle entre ces différentes structures dans lesquelles on retrouve toujours une composante sécrétoire au contact intime du cerveau et en relation avec le milieu extérieur. Simpson a suggéré que l'appareil sacculaire serait d'origine épidermique, et qu'il aurait été entraîné en profondeur par la migration vers l'intérieur de l'organe, au cours de l'évolution. Ceci ne peut évidemment demeurer que conjectural, mais peut être renforcé par l'existence dans le même cérébroïde de G. convoluta, de cellules d'allure photoréceptrice que nous avons décrites précédemment (Manaranche 1971) et dont nous reparlerons au chapitre III B. Quoiqu'il en soit, la compréhension globale du cérébroïde des Glyceridae, à quoi tend ce travail, trouve dans la présence de l'appareil sacculaire un intéressant élément se rapportant aux relations de l'épiderme et du système nerveux central.

g - Organes sensoriels prostomiaux.

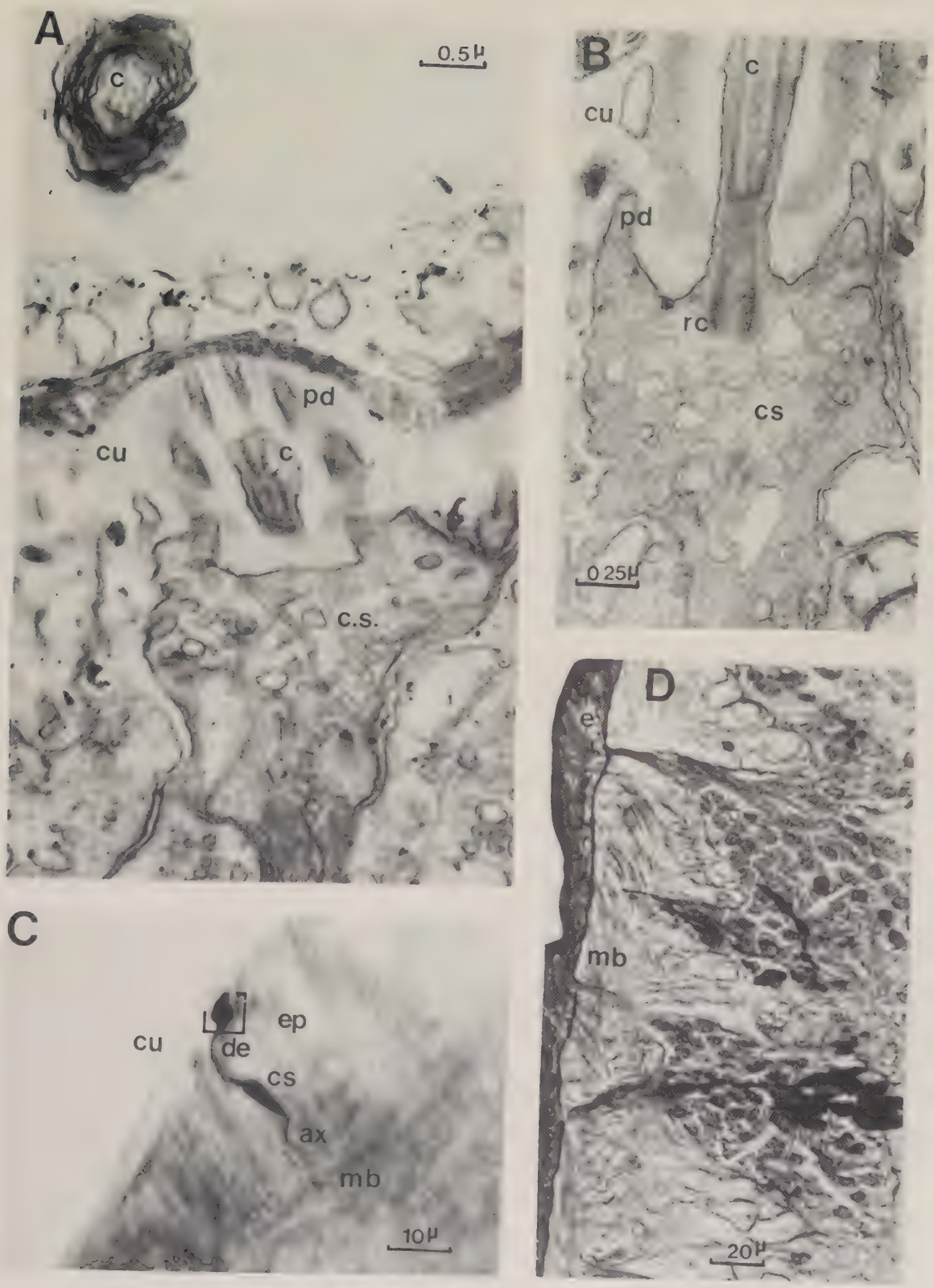
Le prostomium des Glycères présente sur toute sa longueur une double annulation qui très tôt, a attiré l'attention des auteurs. Au nombre de 14 ou 15, ces doubles anneaux sont pourvus d'une couronne de cils vraisemblablement sensoriels portés par la partie postérieure de chaque anneau. Ces cils sont bien visibles sur le vivant en contraste de phase ; les fixateurs habituels utilisés en histologie optique les détruisent presque toujours. Par contre la glutaraldéhyde et l'acide osmique que nous avons utilisés pour la microscopie électronique, les conservent bien, et nous ont permis (fig. 13) de vérifier la nature ciliaire de ces structures, qui, en coupes frontale et transversale, présentent les caractéristiques morphologiques de ces organites.

fig. I3 - A - C Récepteurs prostomiaux : A et B microscopie électronique

C : microscopie optique (coloration au bleu de méthylène)

D : Amas cellulaires prostomiaux (microscopie optique, coloration à la fuchsine paraldéhyde)

ax: axone de la cellule sensorielle,c: cil, cu: cuticule, c.s. : cellule sensorielle, de: dendrite de la cellule sensorielle, ep;: épiderme mb: membrane basale


A
0.5μ
c
pd
cu
c
c.s.
B
c
cu
pd
rc
cs
0.25μ
C
cu
ep
de
cs
ax
mb
10μ
D
e
mb
20μ

Ces éléments ciliaires sont entourés, sur une partie de leur parcours, par des prolongements digitiformes issus de la partie apicale de la cellule neurosensorielle portant le cil. Des formations, tout à fait comparables morphologiquement, ont déjà été décrites par différents auteurs dans d'autres espèces de Polychètes. Par exemple sur les cirres prostomiaux et les palpes de Nereis diversicolor (Dorsett et Hyde 1969), et de N. pelagica (Dhainaut-Courtois 1970) ainsi que sur les cirres parapodiaux de diverses espèces de Néréidiens (Boilly-Marer, 1972).

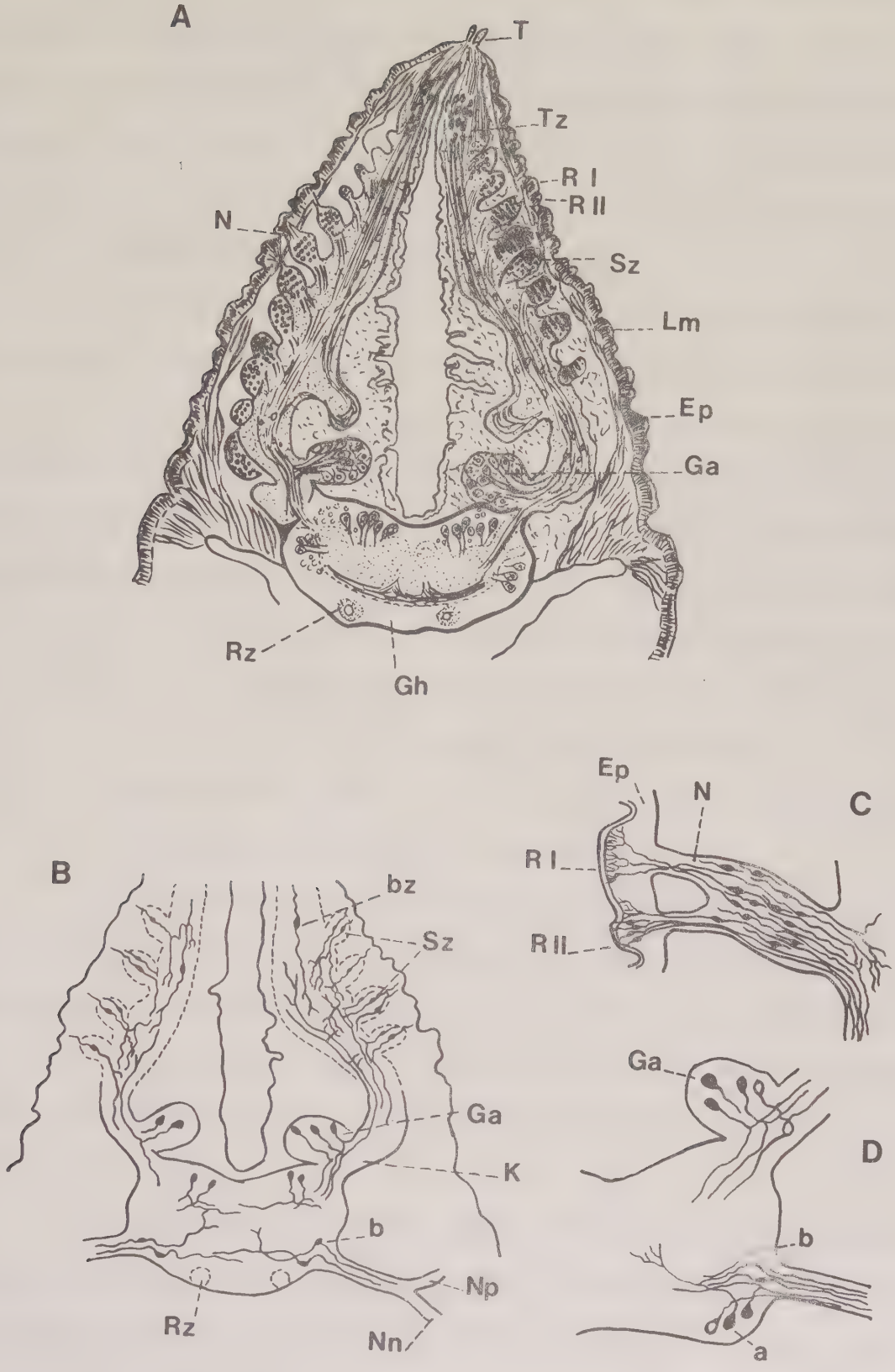
Il ne nous semble pas évident que ces éléments neurosensoriels soient, comme le présume Boilly-Marer des chimiorécepteurs. La biologie des Glyceridae et la structure de ces organes nous permettent tout aussi bien d'imaginer qu'ils assurent une fonction tactile. Seules des études neurophysiologiques permettraient de donner une réponse univoque à ce qui demeure pour l'instant une interrogation.

Bien avant l'apparition de la microscopie électronique, les auteurs qui ont étudié diverses espèces du genre Glycera avaient observé, que, indépendamment des ceintures ciliées présentes au niveau de chaque anneau prostomial, on trouvait des amas cellulaires que Gravier (1898) considérait comme étant de nature purement nerveuse et représentant de simples dilatations de ce qu'il appelait le "cerveau antérieur". C'est Hanström (1927) qui a donné la description la plus détaillée de ces amas cellulaires chez G. dibranchiata (fig. 14). Pour ce dernier auteur, chaque amas serait en relation avec le double anneau correspondant, par l'intermédiaire d'une paire de nerfs. Il serait composé de cellules sensorielles bipolaires que des préparations argentiques lui auraient permis de mettre en évidence.

Nous avons d'abord voulu déterminer la nature, nerveuse ou non, des cellules constituant ces amas. Ni le bleu de méthylène, ni les très nombreuses techniques argentiques utilisées ne nous ont permis de nous assurer de la nature nerveuse des cellules composant ces amas prostomiaux. Par contre, la fuchsine paraldéhyde et le P.A.S. nous ont offert la possibilité

fig.I4 Coupes frontales du cerveau et des tractus nerveux du prostomium de Glycera dibranchiata (d'après Hanström B. 1927)

a: grande cellule "plasmatique" unipolaire; b: petite cellule ganglionnaire bipolaire; bz: cellule ganglionnaire bipolaire du tractus nerveux; Ep: epithélium; Ga: ganglion annexe du cerveau; Gh: cerveau; K: connectif entre le tractus nerveux et le cerveau; Lm: couche musculaire longitudinale; N: nerf joignant les amas de cellules sensorielles avec l'épithélium; Nn et Np : double nerf latéral; R I et R II : portion antérieure et postérieure des anneaux de l'épithélium; Rz: cellules de la "neurochorde"; Sz: amas de cellules sensorielles bipolaires; T: antenne.


A
T
Tz
R I
R II
N
Sz
Lm
Ep
Ga
Rz
Gh
B
bz
Sz
Ga
K
b
Np
Rz
Nn
C
Ep
N
R I
R II
D
Ga
b
a

d'observer des préparations où la nature sécrétoire desélément cellulaires en cause ne semble pas faire de doute (fig. 13 d). En fait ces amas cellulaires sont distribués en 3 groupes au niveau de chaque anneau, et situés dorsalement, latéralement et ventralement. A proximité de chacun de ces groupes passent les 3 nerfs n^3, n^4 et n^5 issus du cérébroïde. Il nous semble probable qu'une relation existe entre ces 3 nerfs et ces 3 séries d'amas cellulaires, mais nous n'avons pu en vérifier la réalité.

Les amas situés en position latérale sont les plus volumineux ; ils comportent chacun 100 à 150 cellules au cytoplasme réduit, souvent bourré de sécrétion. De chaque amas partent 2 prolongements dont les parois sont en continuité avec la basale de l'épiderme. Dans ces sortes de "canaux évacuateurs" on peut suivre l'écoulement du produit de sécrétion, repéré au niveau des cellules. La fuchsine paraldéhyde donne les préparations les plus lisibles de ce point de vue. Les réactions histochimiques que nous avons effectuées, outre la fuchsine paraldéhyde nous ont apporté les résultats suivants :

- P.A.S. positif avant et après digestion salivaire
- Métachromasie positive au fer dialysé de Hale, ainsi qu'à la coloration de Muller et au bleu Alcian.

Dans tous les cas nous n'avons noté aucune différence réactionnelle au niveau de la cuticule, et au niveau du produit de sécrétion. Il nous paraît certain que l'un et l'autre sont de nature mucopolysaccharidienne acide, et il semble probable que ces groupements de cellules sécrétrices assurent le renouvellement de la couche cuticulaire avec laquelle il y a une parfaite continuité.

A partir du moment où nous avons établi la nature sécrétoire de ces amas cellulaires, il nous paraît possible d'homologuer ces structures à celles décrites sur les bords du prostomium des Nephthys par Clark (1955), et d'abandonner des hypothèses aventureuses auxquelles pouvaient conduire la prise en considération d'une nature purement nerveuse, telle qu'elle dérivait de la description fournie par Hanström (1927).

- Les organes nucaux.

Les Glyceridae possèdent comme la très grande majorité des Polychètes errantes, une paire d'organes nucaux dans la partie postéro-dorsale du prostomium. Il est curieux que l'existence de ces organes, pourtant de grande dimension, ait été mise en doute par Hanström (1927), alors que Gravier (1898) les avaient déjà signalés et que Stolte (1932) les décrit en détail.

Ces organes nucaux sont constitués par une couche de cellules ciliées très allongées, pauvres en cytoplasme, au noyau volumineux. L'animal vivant peut invaginer et dévaginer ces éléments sensoriels grâce à une musculature qui leur est propre.

L'innervation de ces organes nous semble être effectuée par les cellules des nucleus I. Ceci pose un problème intéressant et difficile à résoudre car, nous savons que la plus grande partie des cellules du nucleus I ont une allure photoréceptrice décrite plus loin (p.48). Il est probable que certaines cellules de ce nucleus aient conservé une structure banale de neurone ganglionnaire et que ce soient-elles qui assurent une relation avec les cellules sensorielles de l'organe nucal. Il serait étonnant que, par l'intermédiaire d'un hypothétique interneurone les cellules d'allure photoréceptrice du nucleus I soient en relation avec les éléments cellulaires de l'organe nucal. Malheureusement ni la microscopie électronique, en raison de la faible dimension des coupes, ni la microscopie optique, en raison de la relative imprécision des colorations que nous avons obtenues, ne permettent de répondre avec certitude à laquestion que pose les inter-relations de ces différentes structures. Nous pouvons cependant constater que Dhainaut-Courtois (1970) a observé chez Nereis pelagica une relation, par l'intermédiaire du nerf XV, entre le noyau ganglionnaire 18 et les cellules neurosensorielles de l'organe nucal ; or le noyau ganglionnaire 18 est chez l'espèce étudiée, juxtaposé au noyau 19 constitué également de cellules que Dhainaut-Courtois a interprétées comme photoréceptrices.

- Les antennes.

L'extrémité du prostomium de G. convoluta porte 4 petites antennes, disposées grossièrement en croix, d'une longueur n'excèdant pas 100 µ. Ces organes, que Gravier (1898) a homologués sans hésitation aux antennes que l'on trouve chez la plupart des Polychètes errantes, ont été contestés comme tels par Hanström (1927) qui ne les considèrent que comme 4 petites saillies ("vorsprung") de l'extrémité du prostomium.

Des préparations au bleu de méthylène permettent, sur le frais, de suivre les trajets nerveux qui relient, à travers les ganglions annexes, le ganglion cérébroïde à ces antennes. Nous avons indiqué plus haut (p. 19) que les nucleus XI, XII, XIV et XVI nous paraissaient être à l'origine des fibres constituant les nerfs antennaires n^1 et n^2 qui sont, bien entendu, bilatéraux. Ces antennes sont très probablement pourvues de nombreux éléments neurosensoriels, car l'observation en contraste de phase permet de localiser à leur surface de nombreux petits prolongements tout à fait comparables à ceux décrits plus haut (p.24), au niveau des anneaux prostomiaux.

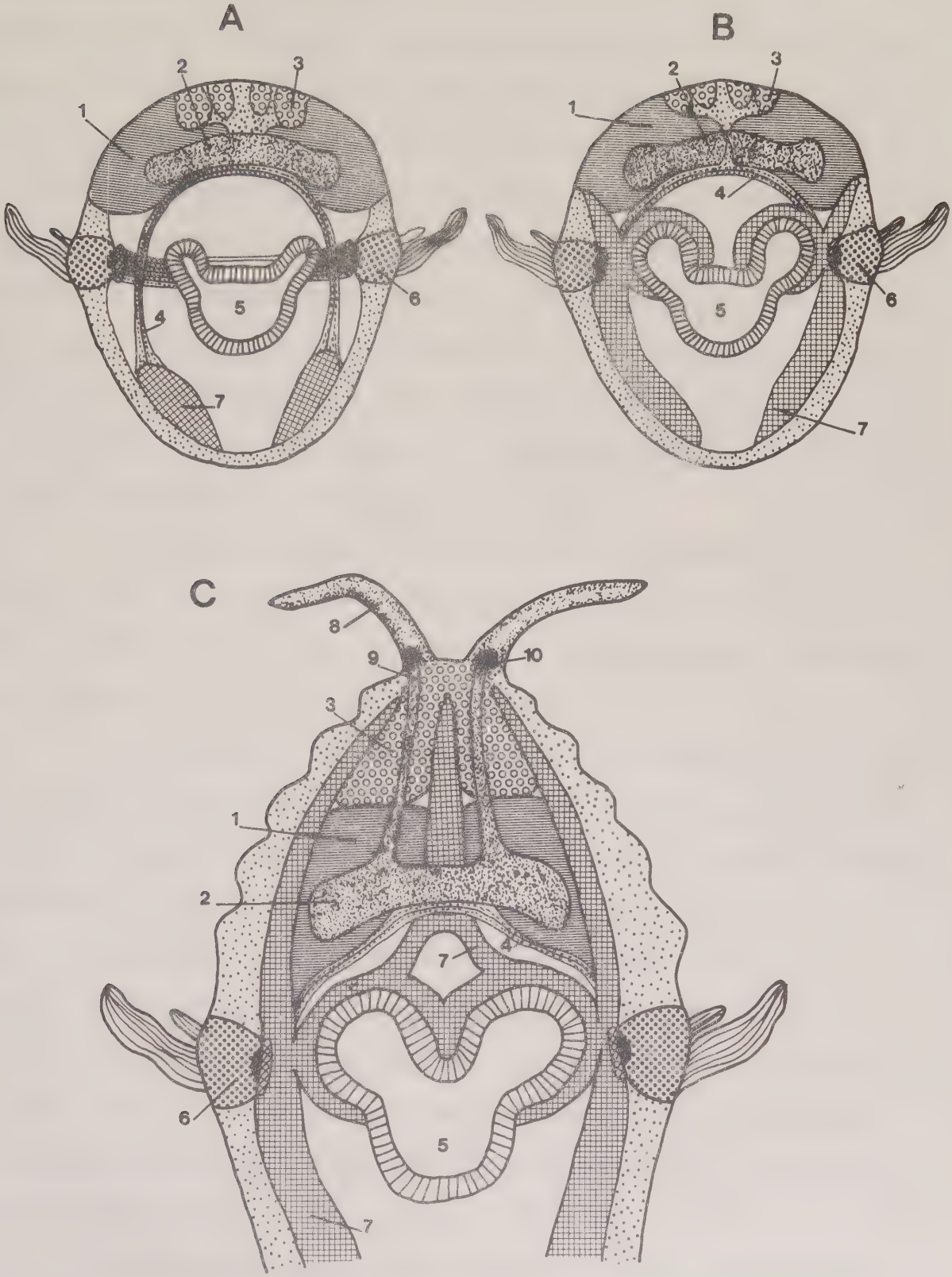
2°- DISCUSSION

Après le rappel des données fournies par l'anatomie microscopique et compte tenu des informations offertes par les travaux embryologiques récents (Akesson 1968), il nous paraît opportun de réexaminer les opinions émises par les auteurs qui nous ont précédés dans l'étude des éléments nerveux prostomiaux des Glyceridae.

Tout d'abord : quel parti pouvons nous prendre dans la polémique qui a opposé et oppose encore sans doute, les tenants et les adversaires de la théorie segmentaire de la formation du prostomium ? Rien dans ce que nous avons observé dans l'anatomie de l'adulte, n'apporte d'arguments pour considérer le prostomium des Glyceridae comme résultant de la fusion de plusieurs segments antérieurs du corps. Akesson (1968) qui a étudié le développement

fig I5 - Schémas d'une jeune trochophore (A), d'une trochophore plus avancée (B) et de la partie antérieure d'une larve prête à la métamorphose (C) de Glycera (d'après Åkesson I968).

I: rudiment de cerveau, 2: commissure cérébrale (A et B) ou neuropile (C), 3: cellules glandulaires (A et B) et rudiments de cellules sensorielles (C), 4: mésoderme larvaire, 5:stomodaeum, 6: prototroche, 7: mésoderme téloblastique, 8:antennes 9: nerf antennaire, IO: ganglion antennaire.


A
1
2
3
4
5
6
7
B
1
2
3
4
5
6
7
C
8
9
10
3
1
2
7
4
6
5
7

embryonnaire de G. alba, et dont nous croyons utile de reproduire les schémas essentiels qu'il en a fourni (fig. 15), a bien observé, que le prostomium dérive entièrement de l'épisphère de la trochophore, comme chez toutes les Annélides Polychètes. Mais les Glyceridae diffèrent de la quasi-totalité des autres Polychètes, par l'invasion ventro-médiane de cette épisphère par le mésoderme téloblastique. Au cours du développement, les couches musculaires qui en dérivent entourerons une cavité que nous pouvons donc désigner, comme cavité coelomique prostomiale. Il ne semble cependant pas que les partisans d'une origine segmentaire du prostomium, puissent tirer argument de ce fait embryologique exceptionnel. Ce mésoderme ne se creuse pas de sacs successifs entourant le stomodaeum, lequel reste toujours en arrière de cette structure. Il s'agit d'un développement secondaire du mésoderme, qu'Anderson (1959) a d'ailleurs aussi observé chez Scoloplos (Ariciidae).

La seconde question, qui normalement se pose après cette étude anatomique est de savoir si le plan structural et fonctionnel proposé par Racovitza (1896) et encore accepté par Bullock et Horridge (1966), peut toujours s'imposer.

Nous savons que pour retrouver les 3 régions définies par Racovitza, Gravier avait dû considérer que le cerveau antérieur de G. convoluta comportait essentiellement les masses "ganglionnaires" annexées aux nerfs antérieurs. Or nous avons vu, au cours de cette étude, que ces amas cellulaires possédaient une innervation propre, représentée par les nerfs n^3, n^4 et n^5 et que, d'autre part ils avaient une indiscutable fonction sécrétrice exocrine. La présence de cellules nerveuses n'ayant pu, par nous, être mise en évidence. Il nous semble très probable que ces amas de cellules sécrétrices dérivent des cellules de même type, décrites dans l'épisphère de la trochophore par Akesson (1968) (fig. 15).

Hanström (1927) considérait, dans son étude de G. dibranchiata, que toute la partie précérébrale du prostomium résultait de la coalescence

de palpes présents chez les antécesseurs des Glyceridae actuels , les 4 petites antennes apicales étant rentrées secondairement en connexion avec ces palpes transformés. Et, pour cet auteur, les centres palpaires du cerveau antérieur (défini par Racovitza) étaient représentés chez l'espèce qu'il étudiait, par le tractus, parsemé de corps cellulaires, qui s'étend de part et d'autre de la fente prostomiale.

A l'appui de la thèse de Hanström, il peut apparaître que nous apportons un argument positif en décrivant 3 nerfs, et non un seul comme il le rapportait, qui participent à l'innervation du prostomium, en plus bien entendu des nerfs antennaires. En effet, chez Nereis, Holmgren (1916) a montré que les palpes sont innervés par 3 nerfs. Mais il peut y avoir là une simple analogie de structure, les travaux d'embryologie d'Akesson tendant à mettre fortement en doute une réelle homologie.

Il semble bien que les palpes des Polychètes Errantes peuvent être ramenés à 2 types principaux : le type eunicien et le type aphroditien ; les palpes des Tomopteridae constituant peut-être un 3me type très modifié par la vie pélagique des représentants de cette famille.

Dans le type aphroditien, que nous trouvons légèrement modifié chez les Néréidiens, la partie centrale est d'origine mésodermique, et constituée de muscles disposés autour de tissu conjonctif. L'ensemble est recouvert par un ectoderme contenant des cellules sensorielles. Vers l'arrière, le mésoderme du palpe s'insinue entre les racines paires du collier périoesophagien, et rentre en connection avec les muscles post-cérébraux.

Chez les Euniciens et les formes qui s'y rattachent, les palpes sont formés après que le cerveau embryonnaire ait été pénétré médialement par le mésoderme. Chez l'adulte ce mésoderme donne naissance à la perforation stomatogastrique qui fait communiquer le coelome des palpes avec le coelome post-cérébral. Le mésoderme divise le neuropile du cérébroïde en une commissure ventrale du cerveau antérieur et une commissure dorsale du cerveau moyen.

Les travaux d'Åkesson ont montré que le mésoderme du prostomium a,chez les Glyceridae,une double origine : d'une part il résulte d'une extension antérieure des muscles longitudinaux du tronc, et d'autre part d'une invasion mésiale du côté ventral du cérébroïde. Seule cette dernière formation pourrait avoir quelque similarité avec le mésoderme du palpe des Aphroditiens. Aucun rapprochement par contre ne pourrait être fait avec les palpes des Euniciens. Mais dans l'un et l'autre cas, la racine unique de chaque côté du collier péri-oesophagien des Glyceridae, s'oppose à la racine double de ce même collier que l'on trouve aussi bien chez les Euniciens que chez les Aphroditiens. Outre cela il semble bien difficile, alors qu'aucune définition satisfaisante n'a encore été trouvée pour les termes : palpe, antenne et tentacule, chez les Polychètes Errantes, d'assimiler à l'une ou l'autre de ces structures le prostomium des Glyceridae.

Ceci, joint aux considérations précédentes, nous laisse perplexe sur l'intérêt qu'il peut y avoir à maintenir la division en 3 parties du cerveau des Polychètes. Il nous paraît tout à fait impossible de reconnaître dans le ganglion cérébroïde que nous avons étudié, 3 "aires sensitivo-nerveuses" distinctes. La famille des Glyceridae se situe sans doute sur un rameau phylogénétique assez précocement isolé du tronc commun auquel ses ancêtres appartenaient. Elle nous paraît pour cela d'un intérêt tout particulier, car elle interdit toute généralisation abusive.

Il nous paraît enfin, à ce stade de notre discussion, nécessaire d'envisager, au moins rapidement, à la lumière de travaux récents, la position systématique de cette famille des Glyceridae.

Benham (1894-1896) incluait la famille des Glyceridae dans le sous-ordre des Nereidiformia. Hatschek (1893), suivi par Hemplemann (1931) et Friedrich (1938), les situait dans le sous-ordre des Nereimorpha, dans lequel il reprenait à peu près toutes les familles classées par Benham dans les Nereidiformia, à l'exception des Amphinomidia dont il faisait un sous-ordre à part.

C'est Uschakov (1955) qui le premier rapprochait les Glyceridae des Phyllodocidae, des Tomopteridae et des Aphroditidae dans l'ordre des Phyllodocemorpha. Après lui, Dales (1962), se basant sur la structure et la position du proboscis, plaçait les Glyceridae à côté des : Phyllodocidae, Alciopidae, Tomopteridae, Goniadidae, Pisionidae, Nephthyidae, (en ne citant que les principales familles) dans une série des Phyllodocida dont tous les membres possèdent un pharynx musculeux et qui de plus on un appareil excréteur de même type (protonéphridies). Les Aphroditidae, les Nereidae, les Syllidae se classent également dans la même série, mais en diffèrent par la nature de l'appareil excréteur.

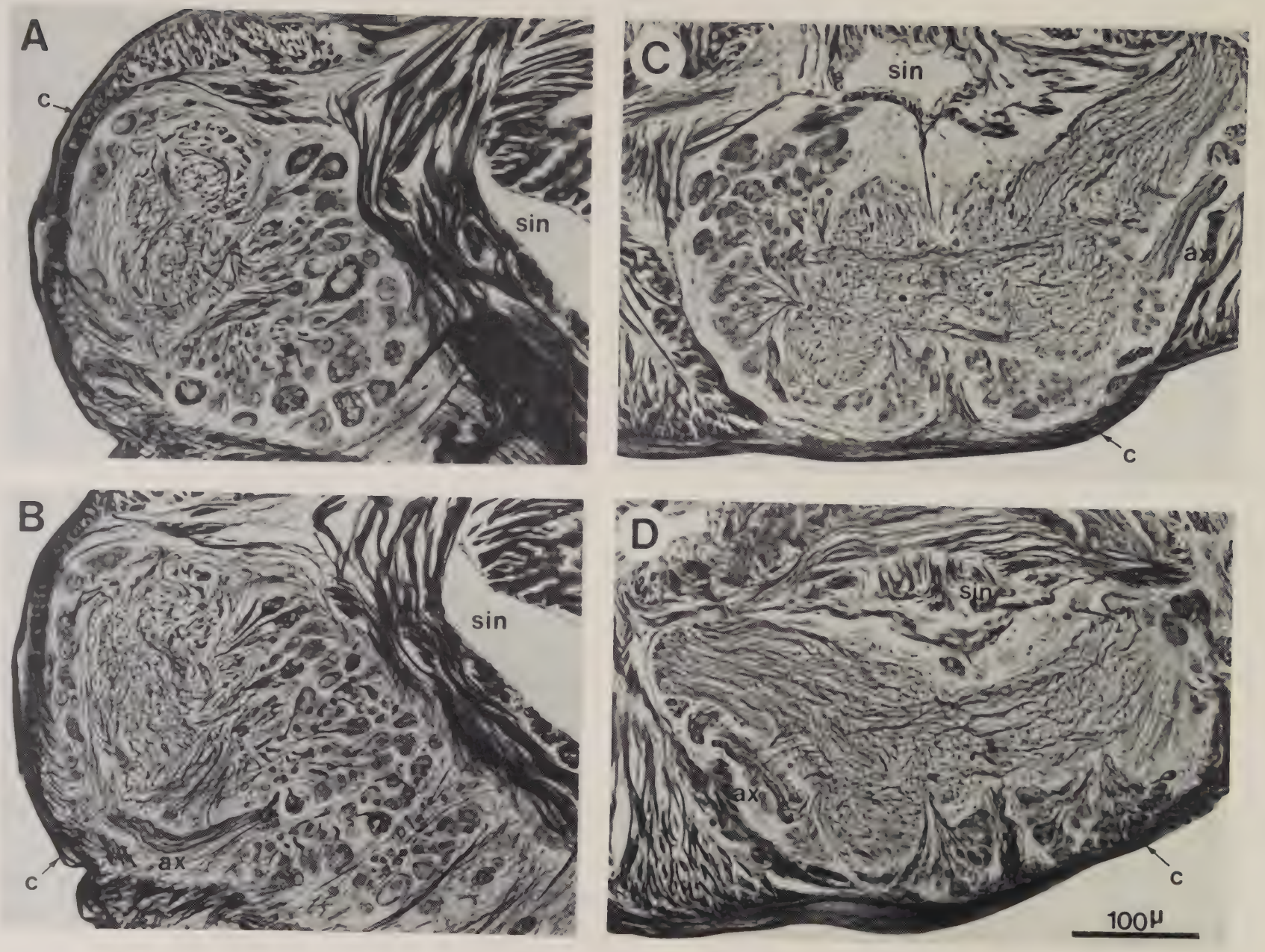
Se basant sur des caractères tirés de l'anatomie de la musculature du corps, Storch (1968) était conduit à établir une parenté évolutive entre Nephthydae, Glyceridae, Goniadidae et Phyllodocidae. Akesson (1968) prenant en considération des caractères morphologiques de l'adulte mais aussi l'ontogénèse des appendices prostomiaux, estimait que les Tomopteridae sont plus proches des Glyceridae que toute autre famille. Malheureusement les descriptions anatomiques précises des ganglions cérébroïdes et des organes prostomiaux demeurent rares dans la plupart des familles que nous venons de citer, à la suite des différents auteurs qui se sont préoccupés de problème de phylogénie. Il serait extrêmement souhaitable de savoir si des structures comparables à l'appareil sacculaire, aux amas cellulaires protomiaux, ou aux organes photorécepteurs, que nous décrivons plus loin, se retrouvent chez les représentants de ces familles. En tous cas, les Nephthyidae qui ont été étudiés notamment par Clark (1955-1959) comportent des structures, comme les lobes postérieurs du cerveau et les glandes à mucus du prostomium, dont nous avons dit ci-dessus qu'elles pouvaient pour les premières être apparentées à l'appareil sacculaire des Glyceridae, et pour les secondes aux amas cellulaires prostomiaux.

fig. I6 - Ganglion sous-oesophagien (microscopie optique, technique de Palmgren)

A et B coupes parasagittales

C et D coupes transversales

ax: axone géant, c: cuticule, sin: sinus


A
c
sin
C
sin
ax
c
B
sin
ax
c
D
sin
ax
c
100μ

Cette partie de notre travail apporte donc de nouveaux arguments pour un rapprochement des Glyceridae et des Nephthyidae. Cette dernière famille étant la seule, parmi celles que les auteurs modernes proposent de regrouper dans la série des Phyllodocida, dont le ganglion cérébroïde ait été assez bien étudié. Il nous semble particulièrement opportun de susciter dans l'avenir des études anatomiques du système nerveux prostomial, d'abord chez les Phyllodocidae et secondairement chez les Tomopteridae, les Pisionidae et les Alciopidae, pour vérifier les possibilités d'une parenté évolutive dont la réalité ne semble point faire de doute en ce qui concerne les Goniadidae.

E - LE GANGLION SOUS OESOPHAGIEN ET LA CHAINE NERVEUSE VENTRALE

Bien que notre étude ait été centrée sur le ganglion cérébroïde de G. convoluta, il nous est apparu que le ganglion sous-oesophagien et la chaîne nerveuse ventrale ne pouvaient être totalement exclus de nos investigations. La méthode de Palmgren ici comme pour le ganglion cérébroïde nous a fourni les images les plus lisibles pour les éléments nerveux.

1° Le ganglion sous-oesophagien

Les deux branches du collier péri-oesophagien se rejoignent ventralement, par rapport à l'oesophage et constituent une masse ganglionnaire volumineuse et relativement complexe dans sa structure histologique. Ce ganglion sous-oesophagien a une forme grossièrement trapézoïdale en vue frontale (cf. fig. 16 C et D), sa plus grande dimension, dans ce plan atteint 400 µ environ. Des coupes parasagittales (fig. 16 A et B) permettent d'estimer à 350 µ son plus grand diamètre.

Par les branches du collier périoesophagien parviennent à ce ganglion un important contingent de fibres dont les corps cellulaires sont évidemment situés dans le ganglion cérébroïde. Les volumineux axones provenant des neurones géants décrits plus haut (cf. p. I2) traversent le ganglion sous-oesophagien, comme les fig. 16 B, C et D permettent de le vérifier.

Les neurones dont les péricaryons sont situés dans le ganglion que nous décrivons ici, sont groupés essentiellement en 3 nucleus de chaque

fig. I7 - Chaine nerveuse ventrale. Microscopie optique.

A,B et C coloration à la fuchsine paraldéhyde

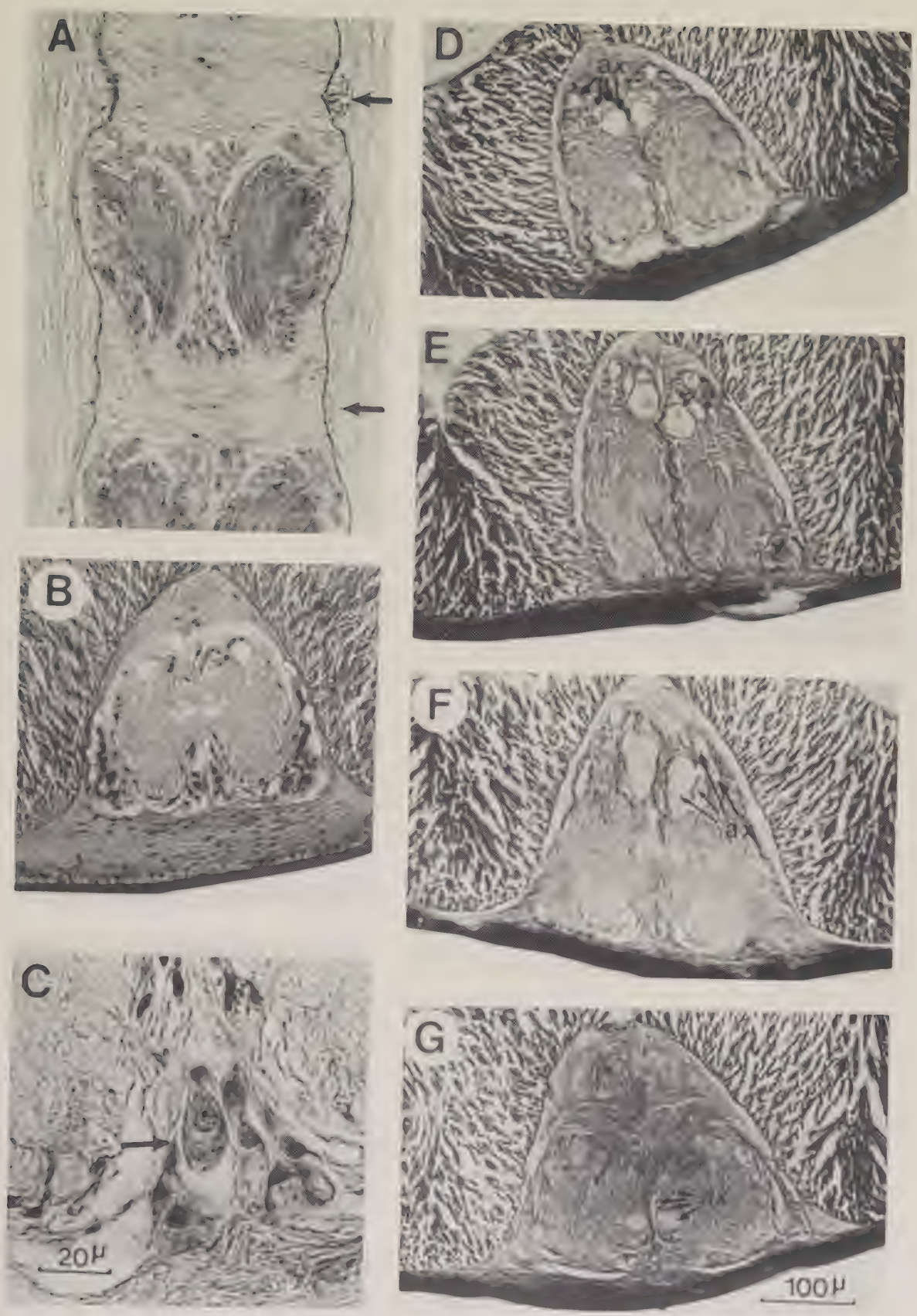
A: Coupe frontale. Les ↑ indiquent les limites d'un métamère

B: Coupe transversale

C: Détail montrant une cellule neurosecrétrice ↗

D à G: Coupes transversales sériées. Coloration de Palmgren.

ax: axones géants


A
B
C
20μ
D
ax
E
F
ax
G
100μ

côté du plan sagittal. L'unique nucleus ventral est composé de petites cellules (10 x 15 µ) piriformes, dont les axones convergent vers la région médio-ventrale du neuropile qui occupe toute la partie centrale du ganglion. Deux nucleus en position latéro-dorsale groupent des cellules de taille assez variable, mais dont les plus grands éléments peuvent atteindre 80 x 50 µ. Les plus grands neurones de ces 2 derniers nucleus sont les plus dorsaux. Les axones convergent vers 2 points latéraux du neuropile et se prolongent dans celui-ci pour constituer 2 commissures transversales bien visibles sur la fig. 16 C.

Quelques éléments cellulaires situés tout à fait dorsalement et latéralement envoient leurs axones dans la branche du collier péri-oesophagien située du même côté. Il n'est malheureusement pas possible, en raison de l'enchevêtrement inextricable des fibres constituant le collier péri-oesophagien de vérifier si ces axones atteignent le ganglion cérébroïde.

2° La chaine nerveuse ventrale.

On retrouve au niveau de la chaine nerveuse ventrale (fig. 17) les axones de grand diamètre correspondant aux 4 paires de neurones géants décrits dans le cérébroïde (cf. fig. 3). Une paire de ces axones "géants" a un diamètre nettement plus grand que celui des 3 autres, il peut atteindre 35 à 40 µ.

L'examen de coupes transversales successives ou de coupes frontales ou para-sagittales favorables, permet de suivre le trajet de ces fibres à travers plusieurs métamères et de constater que ce trajet a une allure sinusoïdale. Il nous semble évident que cette disposition correspond à l'état de contraction de l'animal, état généralement réalisé par la fixation sans intervention d'anesthésique. C'est probablement cette contraction entraînant de nombreux replis des fibres les plus fines qui a interdit à Bullock (1948) de préciser le nombre exact des axones géants, qu'il estime compris entre 8 et 14.

La paire de fibres de la plus grande dimension est toujours la plus ventrale et la plus proche du plan sagittal. Il ne nous a pas été possible de déterminer avec certitude la paire de neurones géants qui lui donne naissance ; mais il apparaît comme le plus probable que ce sont les cellules N_I et N'_I qui sont à son origine.

Les cellules nerveuses propres à la chaine nerveuse ventrale constituent des ganglions métamériques très discrets (fig. 17). Ce sont des éléments de relativement petites dimensions dont les pericaryons n'excèdent généralement pas 10 x 15 µ. Leurs axones constituent un volumineux neuropile qui occupe toute la partie centrale de la chaine nerveuse ventrale. Les corps cellulaires sont disposés en éventail, essentiellement dans les régions latérales et médio-ventrales de la chaine nerveuse. Un certain nombre de cellules ont leur cytoplasme coloré par la fuchsine paraldéhyde, quand on utilise ce type de coloration.

F - CONCLUSION

Au terme de cette étude de l'anatomie microscopique du système nerveux central de G. convoluta, nous pouvons retenir que l'originalité du ganglion cérébroïde est sans doute la conséquence de la réduction des appareils sensoriels prostomiaux par rapport à ce qu'on a coutume de trouver chez la plupart des autres familles de Polychètes Errantes.

Un certain nombre de structures, comme les corpora pedunculata sont absentes chez les Glyceridae. On sait que leur présence est le plus souvent liée au grand développement des palpes, des antennes et des yeux. Ces structures, que l'on retrouve chez les Arthropodes, ont-elles régressé chez les Glyceridae, ou au contraire avons nous à faire ici à un stade évolutif antérieur à leur développement ?

Dans leur ouvrage général sur le système nerveux des Invertébrés, Bullock et Horridge (1965) penchent pour une régression de ces structures. Ceci joint à d'autres considérations concernant l'appareil sacculaire, les

formations d'allure photoréceptrice que nous étudions plus loin, ainsi qu'à la réduction des antennes, renforce le point de vue selon lequel la famille des Glyceridae représenterait un stade évolutif spécialement avancé parmi les Errantes. Il est hors de doute en tous cas, que nous avons avec les Glyceridae des représentants d'une ligne évolutive qui s'est précocement détachée de la souche commune aux Polychètes Errantes.

-o-o-o-o-

CHAPITRE II

ETUDE CYTOLOGIQUE

A - LA CAPSULE ENVELOPPANTE ET LA GLIE

La névroglie a surtout été étudiée, en microscopie électronique, parmi les différents phyla d'Invertébrés, chez les Insectes et les Mollusques. Les études concernant les Annélides sont beaucoup plus rares. Elles ont porté d'abord sur les Hirudinées (Gray et Guillery 1963, Coggeshall et Fawcett 1964, Coggeshall 1966) puis sur les Oligochètes (Coggeshall 1965, Levi et Coll. 1966, Zimmerman 1968). Jusqu'à une période récente, peu d'études ont concerné les Polychètes. Seules de brèves remarques, à l'occasion d'études sur différents aspects de système nerveux central, peuvent être notées jusqu'en 1970 (Horridge 1963, Golding 1967, Dhainaut-Courtois 1968-1970, Dhainaut-Courtois et Warembourg 1969, Hermans 1969). C'est Baskin (1971 a, b, c,) qui le premier, à notre connaissance, a consacré un travail particulier à la névroglie des Polychètes en étudiant diverses espèces du genre Nereis.

Nous exposerons successivement nos observations concernant la capsule enveloppante et la glie.

1°- LA CAPSULE ENVELOPPANTE

Comme nous l'avons rappelé précédemment, on distingue aisément dans cette structure deux éléments : le neurilemme et le perilemme.

a - le neurilemme (ou lamelle neurale) comporte une couche externe, d'aspect assez homogène, finement granuleuse, de 0,2 à 0,4 µ d'épaisseur, envoyant par endroit des digitations dans la couche sous-jacente. Celle-ci, épaisse de 2 à 4 µ renferme de très nombreuses fibres à aspect de collagène (fig. 18). Ces fibres dont le diamètre varie de 250 à

fig. I8 - a) Neurilemme et musculature épineurale du cérébroïde x36000
b et c) Fibres à allure de collagène dans le neurilemme du cérébroïde (b x 50.000, c x 93.000)

m.: muscle épineural, c.e.n; couche externe du neurilemme, c.i.n.: couche interne du neurilemme, Les flèches désignent les jonctions entre muscle et neurilemme.

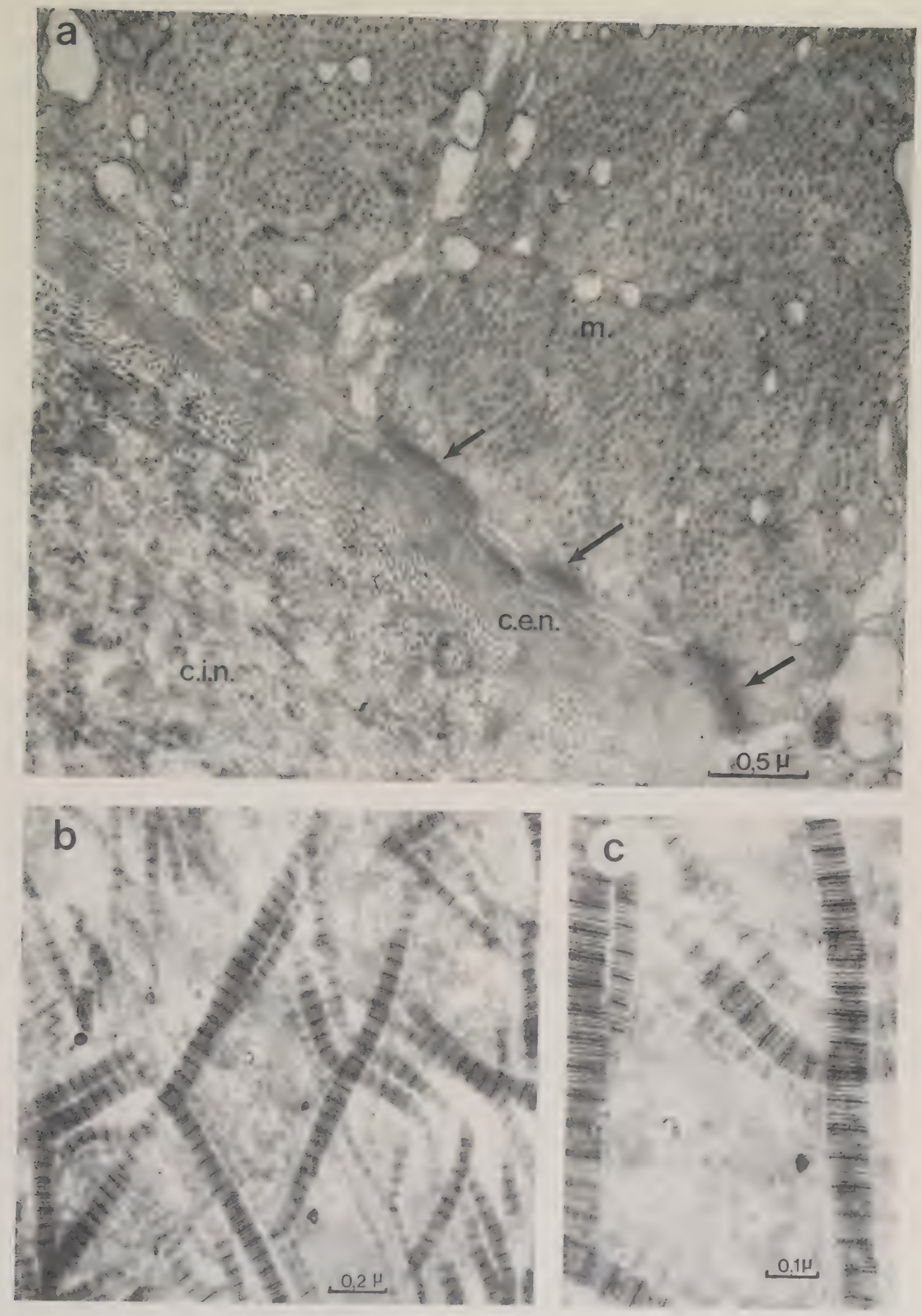
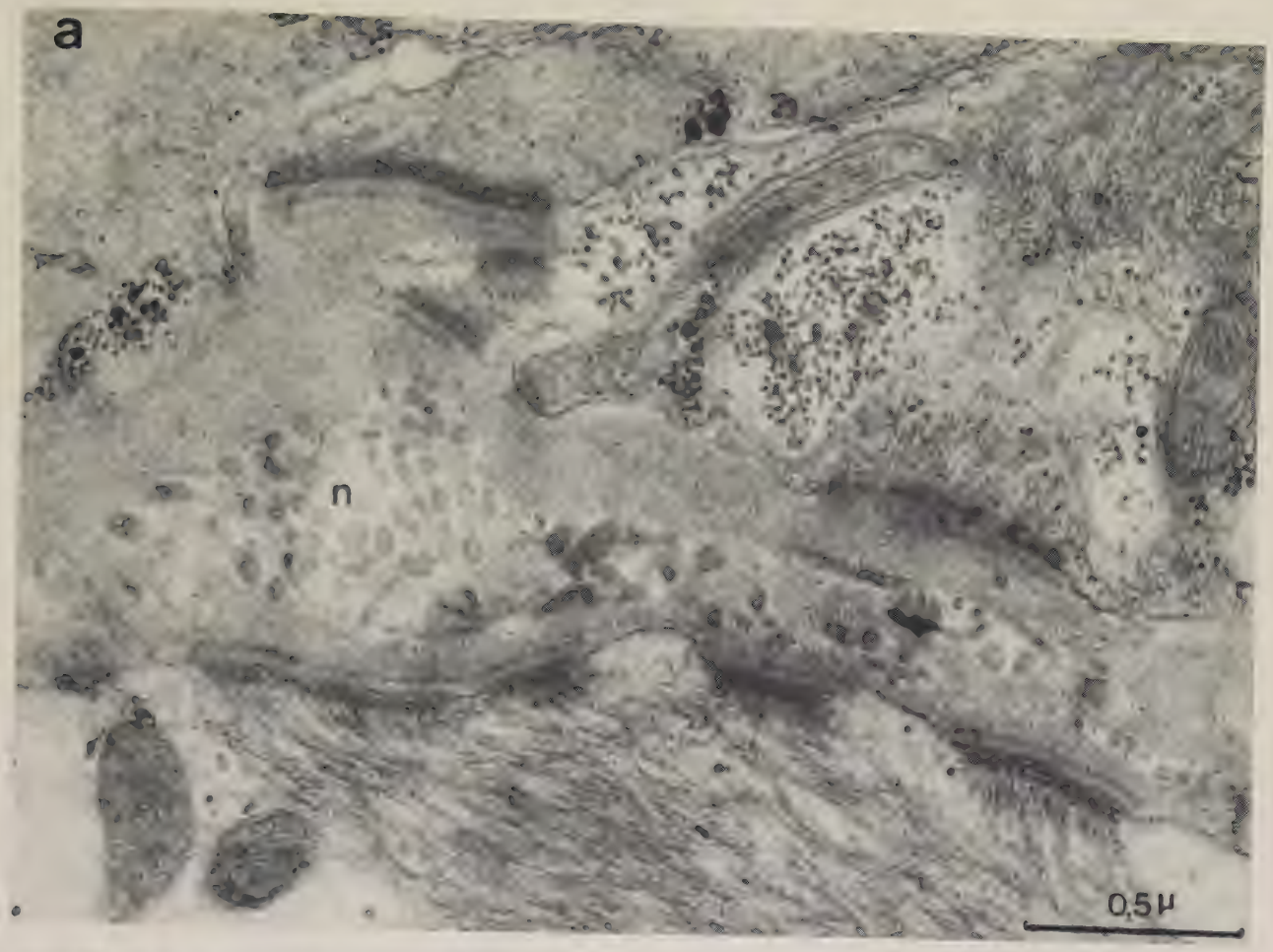

a
m.
c.e.n.
c.i.n.
0,5 µ
b
0,2 µ
c
0,1µ

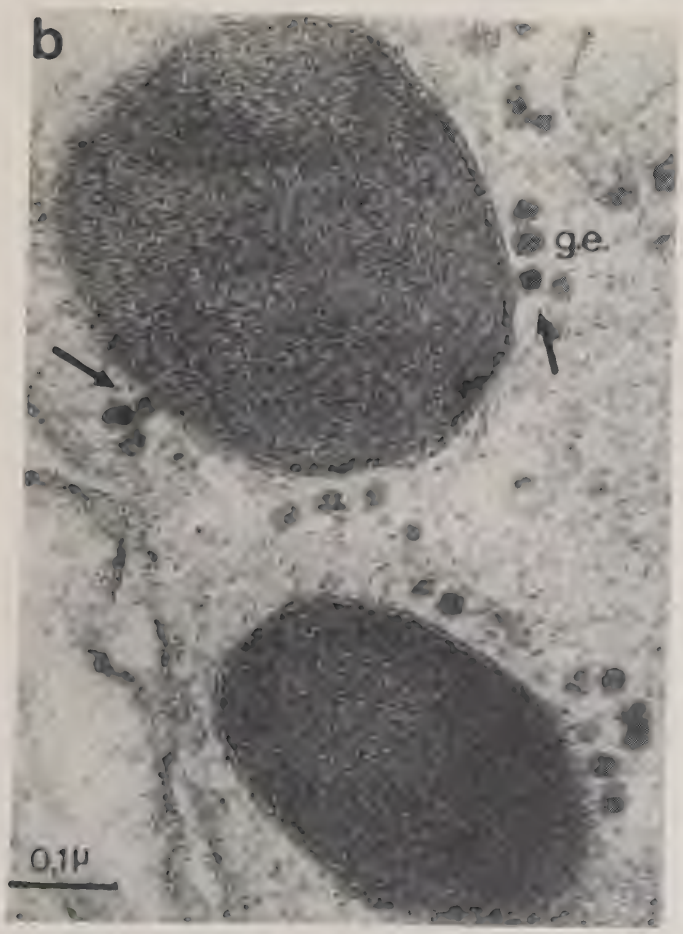
fig. I9 - a) prolongements du neurilemme au niveau de la chaine nerveuse ventrale x 52.000

b) granules dans une cellule gliale x 130.000

g.e.: grains élémentaires, ↗ contiguité entre grains élémentaires et granules.

c) filaments coupés transversalement (f.g.) et granules (g.) dans des cellules gliales jointives x 32.000


a
n
0,5 µ


b
g.e.
0,1µ

c
f.g.
g
f.g.
0,5 µ

1.000 Å peuvent atteindre une longueur de plusieurs microns. Bien que nous n'ayons pas étudié, par des méthodes spécifiques, ces fibres, la moyenne des quelques mesures que nous avons effectuées sur diverses micrographies nous permet d'estimer à 550-600 Å, la périodicité qu'elles présentent.

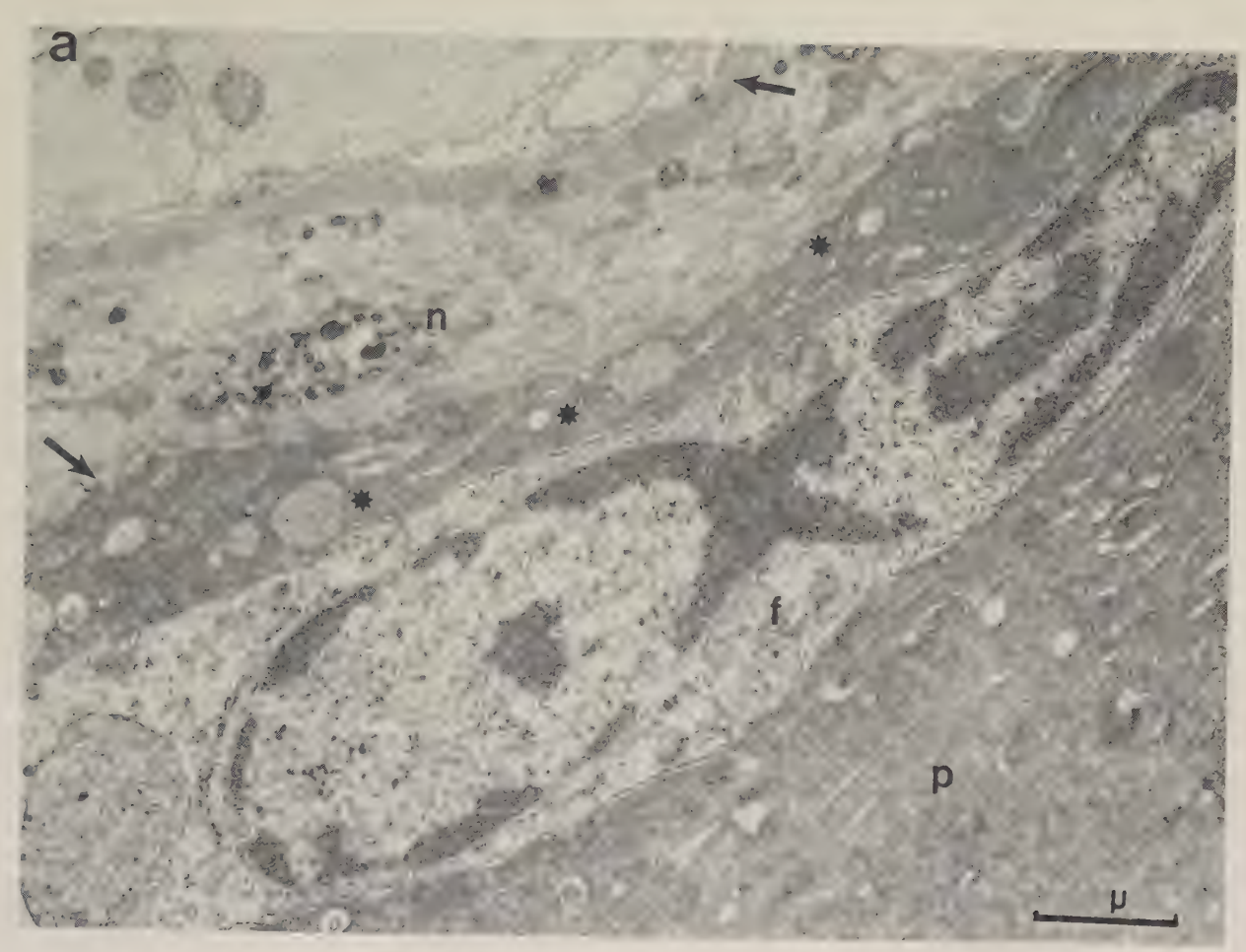
Dans toute l'épaisseur du neurilemme, nous rencontrons des inclusions de taille et de contenu variés, qui permettent de penser que d'importants transferts de matériel s'effectuent à travers cette structure.

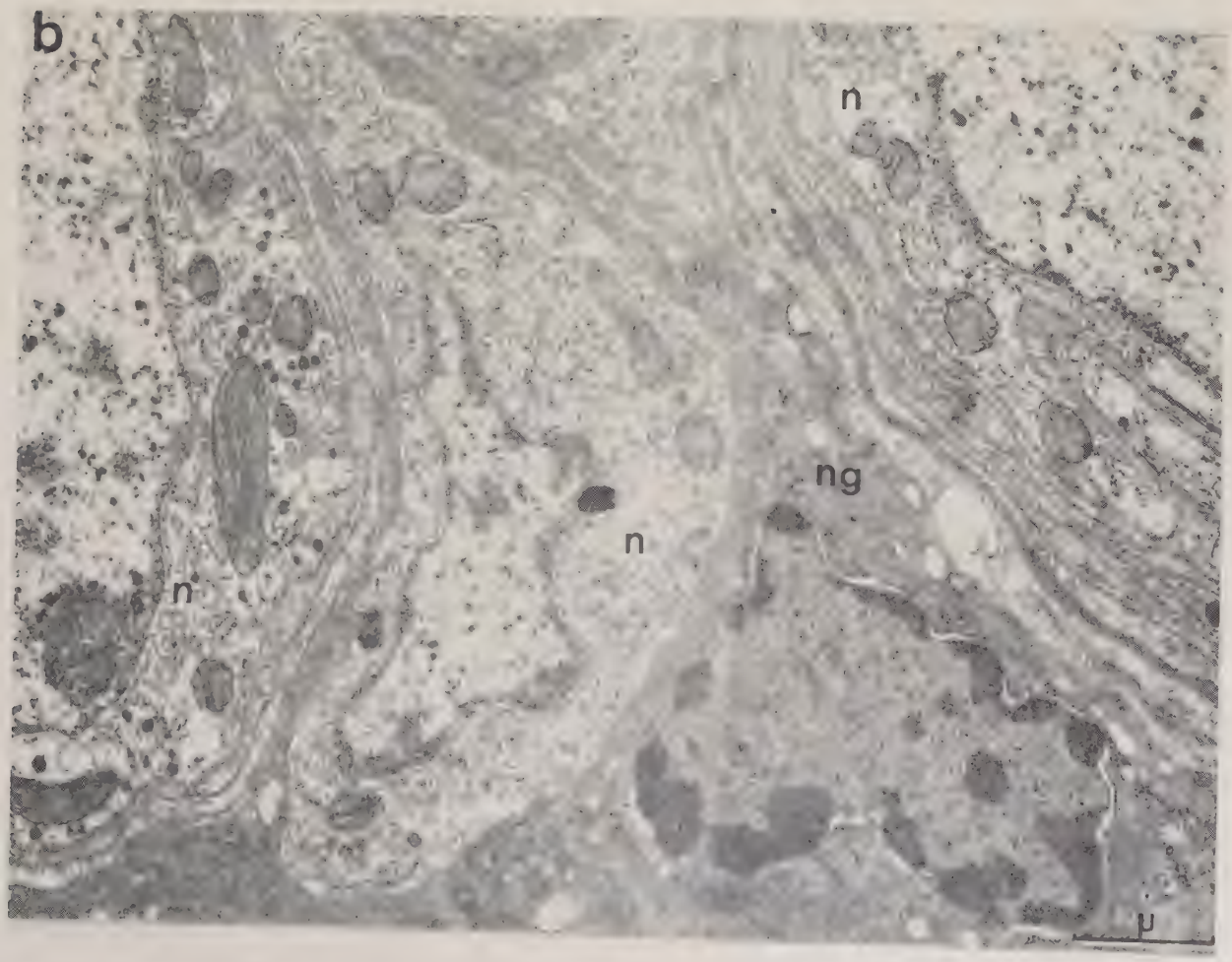
La surface externe de la lamelle neurale, dans les régions dorsales et latérales du cérébroïde, aussi bien qu'au niveau de la chaine nerveuse ventrale, entre en contact avec les cellules musculaires environnantes par l'intermédiaire de jonctions assez comparables à des hémi-desmosomes, (fig. 18 a et 19 a) au niveau desquelles aboutissent de très nombreux tonofilaments. Cette musculature épineurale a été signalée et étudiée au niveau ultra-structural chez les Hirudinées par Coggeshall et Fawcett (1964), chez les Oligochètes par Staubesand et Coll. (1963), dans les trois classes d'Annélides par Baccetti (1967). Ce dernier auteur, dans une étude plus spécialement consacrée à ce problème, note l'absence de cette musculature chez les Arthropodes alors qu'on la retrouve aussi chez les Mollusques. Baskin (1971 a et b) signale chez les Polychètes des muscles associés à la lamelle neurale, mais n'en fournit pas d'image en microscopie électronique. Les auteurs qui se sont intéressé à ces structures admettent généralement que cette musculature permet, chez des animaux dépourvus de squelette rigide, d'ajuster la longueur des nerfs durant la contraction et l'élongation du corps. Les Arthropodes, qui, comme les Vertébrés, possèdent un squelette non-élastique, sont effectivement dépourvus de musculature épineurale. Nous retiendrons cependant préférentiellement l'opinion exprimée par Rosenbluth (1963) qui, étudiant la musculature épineurale d'Aplysia californica, suggérait que cette disposition anatomique pouvait faciliter la circulation de l'hémolymphe dans le système nerveux, par des pulsations intermittentes. Chez les Glyceridae où tout

fig. 20 - a) neurilemme (n.) et perilemme (p.) du cérébroïde. x I7.000

Les ✱ permettent de vérifier la communication, entre la cellule à allure de fibrocyte (f.) et le neurilemme. Les ↗ signalent les communications entre le neurilemme et les espaces extra-cellulaires.

b) cellule gliale (ng.) entre 2 neurones du cérébroïde (n.) x I7.000


a
n
f
p
μ


b
n
ng
n
n
μ

système circulatoire vascularisé est absent,et où comme chez les autres Annélides le système nerveux est dépourvu d'irrigation propre,nous sommes aisément convaincus de la nécessité d'un système contractile associé au système nerveux pour y faire circuler le liquide coelomique et les substances dissoutes qu'il contient. D'autant que, comme nous allons le voir, la totalité du cérébroïde est très riche en espaces extra-cellulaires.

On observe de place en place à la face externe et à la face interne, par rapport au cérébroïde, des communications de l'espace extracellulaire avec le neurilemme (fig 20 a) qui doit être tout entier considéré comme extra-cellulaire.

b - Le perilemme (= sheath œlls)

Sous le neurilemme on rencontre par endroit d'assez rares cellules fusiformes, au cytoplasme peu abondant (fig. 20 a). La membrane externe de ces cellules (qui ont tout à fait l'allure de fibroblastes de Vertébrés) est bordée d'un espace extra-cellulaire dont on peut suivre la communication avec le neurilemme. Au niveau des renflements de cet espace on observe la présence d'un matériel moyennement dense aux électrons. On ne rencontre ce type cellulaire que dans la périphérie du périlemme.

Cette assise non-neurale, située entre le neurilemme et les neurones associés intimement à la névroglie, a dans le cérébroïde et dans la chaine nerveuse ventrale une épaisseur très variable. Au niveau du cérébroïde, nous pouvons admettre que sa dimension moyenne est de l'ordre de 30 µ, mais dans les régions latérales et ventrales,cette épaisseur peut atteindre 100 µ. Ce périlemme est constitué de cellules,aux contours sinueux, inextricablement enchevêtrées entre elles, riches en glycogène et en inclusions lipidiques comme nous l'a montré l'histochimie optique.

Les images en microscopie électronique de ce tissu mettent en évidence l'abondance des mitochondries, surtout à la périphérie, et l'importance des espaces extracellulaires.

2°- LA NEVROGLIE

Dans les parties plus profondes du cérébroïde, au voisinage des neurones, on rencontre le tissu glial proprement dit. Le noyau des cellules de la névroglie, de petite dimension (fig. 20b), possède généralement un nucléoplasme assez dense, avec une chromatine disposée en mottes à la périphérie. Le cytoplasme, parfois de forte densité aux électrons, est assez peu riche en organites ; les filaments et les granules que nous décrivons plus loin en sont les éléments les plus caractéristiques. Ces cellules envoient des prolongements cytoplasmiques de largeur variable qui enveloppent les neurones, généralement de plusieurs couches superposées. Ces prolongements s'enfoncent parfois profondément dans le péricaryon des neurones, constituant ce que, depuis Holmgren (1914) on a décrit chez de très nombreux Invertébrés sous le nom de trophospongium.

Le tissu non neural profond du cérébroïde et de la chaîne nerveuse ventrale, présente 3 différenciations remarquables que nous décrirons successivement :

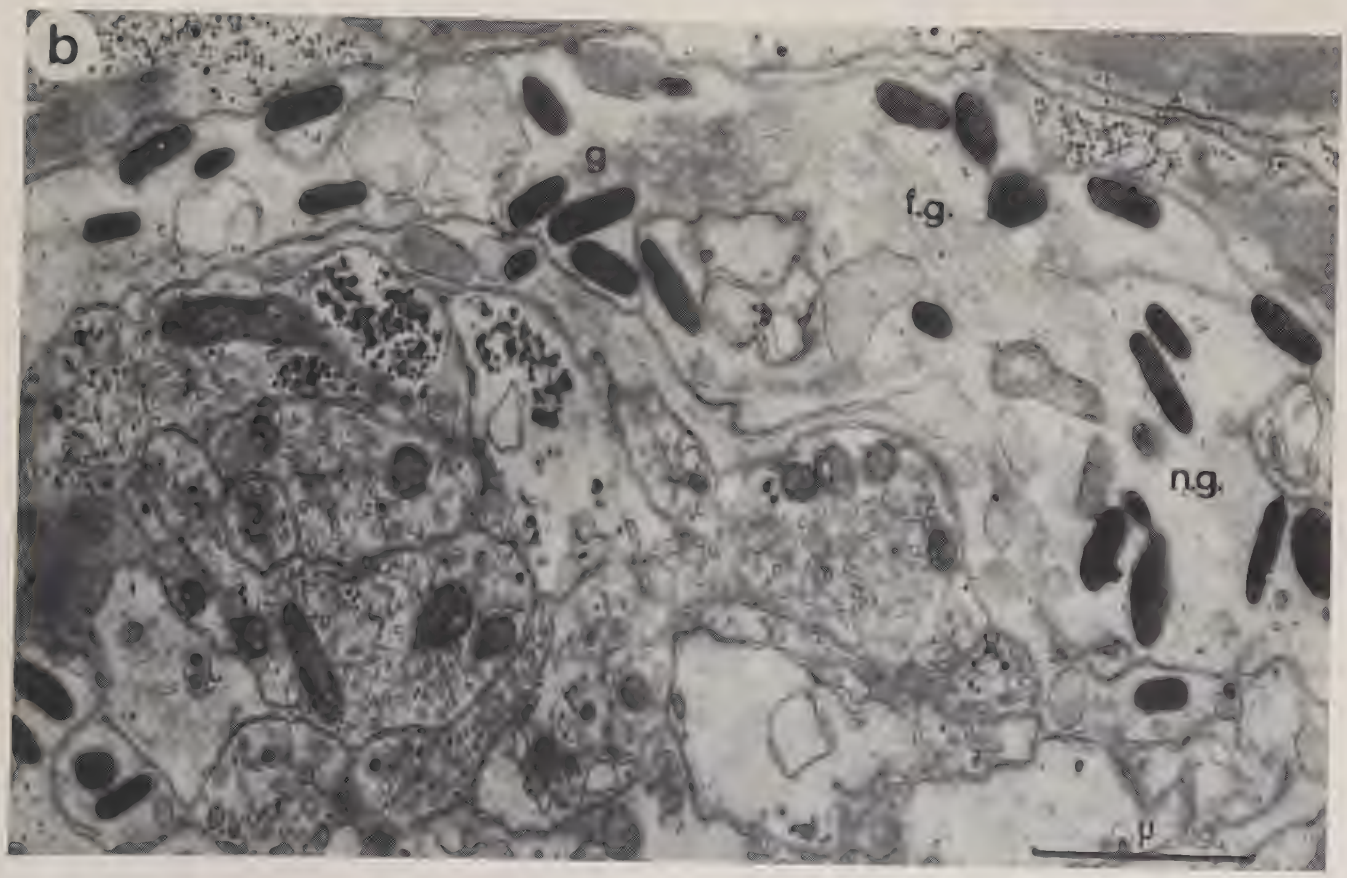
- les filaments gliaux,
- les granules,
- les desmosomes et les espaces extra-cellulaires.

a - les filaments gliaux

La présence de structures filamenteuses dans la glie est d'une grande banalité chez les Invertébrés, comme d'ailleurs chez les Vertébrés. Cependant l'abondance de ces filaments dans certaines cellules du cérébroïde et de la chaîne nerveuse ventrale est tout à fait remarquable (fig. 19 c). Ces filaments ont un diamètre que nous estimons à 70 - 80 Å ; ils sont moyennement osmiophiles. A fort grossissement, on distingue en coupe transversale autour d'un centre dense, une zone claire pouvant apparaître comme une sorte de gaine de nature chimique différente de l'axe central. Les images des coupes

fig. 21 a et b) - cellules gliales du cérébroïde (n.g.),
g.: granule, f.g.: filaments gliaux.
a) x 20.000 ; b) x 25.000.

a
f.g.
n.g.
g
g
μ


b
g
f.g.
n.g.
μ

longitudinales, toujours à fort grossissement,montrent une certaine périodicité, donnant l'apparence à ces structures de rangées de perles. La longueur de ces filaments est difficile à évaluer en raison de leur enchevêtrement et de leur cours sinueux ; il semble néanmoins que des longueurs atteignant le micron ne soient pas rares, et nous n'excluons pas que certains éléments dépassent cette dimension. Fréquemment,à proximité de ces faisceaux de filaments gliaux, se rencontrent des amas de grains à l'aspect de glycogène.

b - Les granules

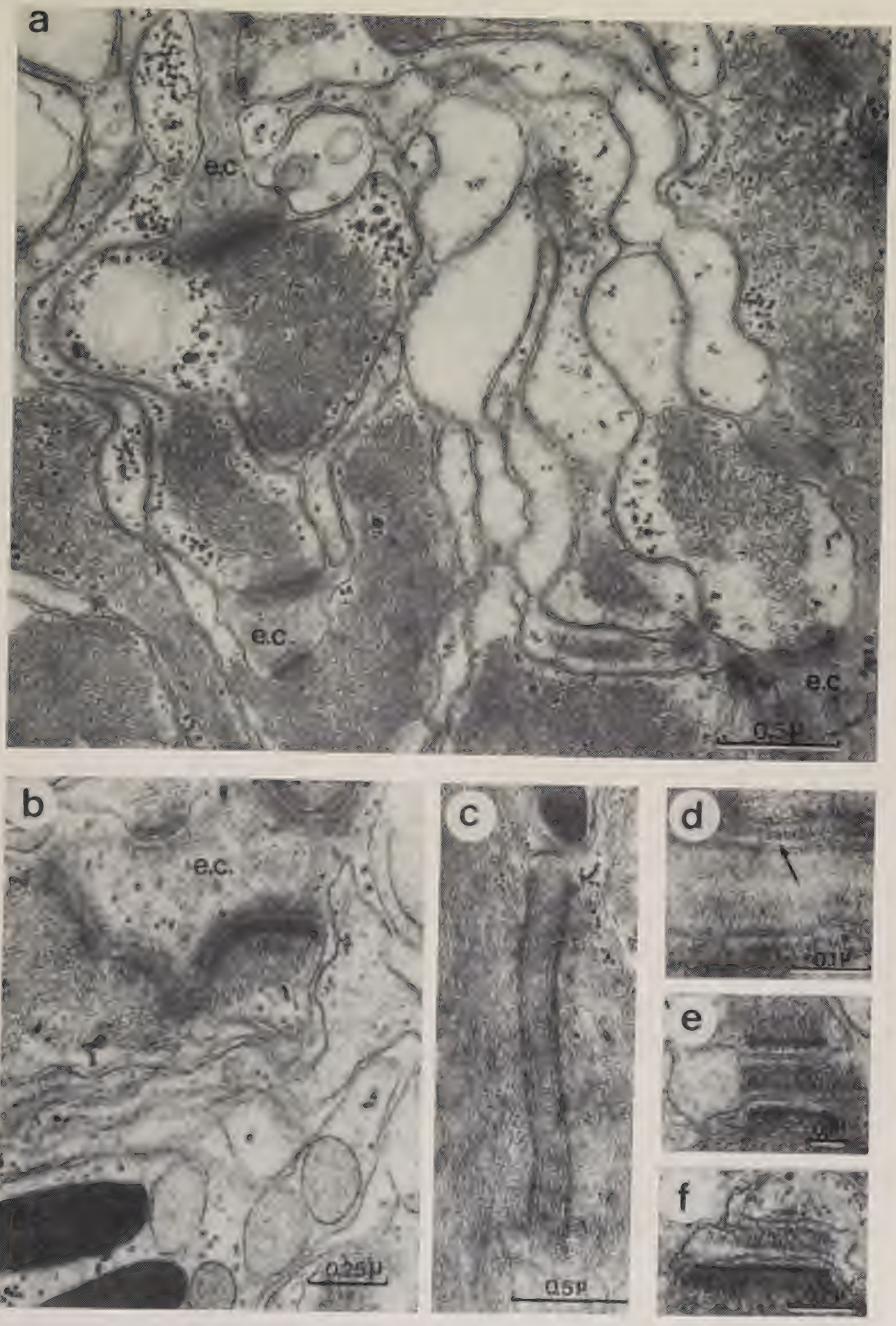
On rencontre dans un grand nombre de cellules non neurales, aussi bien du cérébroïde que de la chaîne nerveuse ventrale, des granules denses aux électrons, de forme généralement ovoïde, d'une dimension moyenne de 5.000 Å pour leur grand axe,et de 2.000 Å pour leur petit axe. Certains de ces grains peuvent atteindre jusqu'à 9.000 Å x 2.500 Å (fig. 19 b, c). Leur contenu est remarquablement homogène et finement granuleux. Une double membrane,de même dimension que la membrane plasmique les entoure (fig. 19b). A la périphérie de ces organites on trouve de façon constante, des grains que nous qualifierons d'élémentaires, de même densité électronique , d'un diamètre de 200 à 250 Å,et dépourvus de membrane. On peut observer par endroit (fig. 19 b) des relations de contiguïté entre ces grains élémentaires et les granules, sans que nous puissions assurer que ceux-ci leur donnent naissance ou au contraire en reçoivent le contenu. Ces granules, et les grains élémentaires constamment présents dans leur environnement, se rencontrent aussi bien dans la région périnucléaire des cellules gliales, qu'aux extrémités de leurs plus fins prolongements (fig. 21 a et b).

Les granules et les filaments décrits ci-dessus ne semblent pas exclusifs les uns des autres (fig.21 b). On remarque cependant que l'un ou l'autre de ces éléments peut être prédominant, sans que nous puissons qualifier comme l'a fait Haskin chez Nereis, de "granulocytes" certaines cellules gliales.

fig. 22 a, b, c, d, e, f) Jonctions entre cellules gliales, à allure de desmosomes. e.c.: espaces extra-cellulaires.

a x 40.000, b x 55.000, c x 40.000, d x 130.000, e x 65.000 f x 55.000.

22 d la ↗ indique les structures en " épingle à cheveux" des tonofilaments au niveau de la plaque dense.


a
e.c
e.c
e.c
0.5μ
b
e.c.
0.25μ
c
0.5μ
d
0.1μ
e
f

c - Les desmosomes et les espaces extracellulaires

En de très nombreux endroits, on note la présence entre cellules gliales adjacentes, de volumineux desmosomes, qui présentent cependant des caractères sensiblement différents des structures de même nom, souvent décrites dans les épithéliums de Vertébrés. Quand les bords des deux cellules, portant ces différenciations, sont sensiblement parallèles, un espace de 1.000 Å environ sépare les membranes plasmiques des deux cellules gliales contigues au niveau de ces structures. Cet espace est alors rempli d'une substance moyennement dense aux électrons dans la partie centrale, cependant qu'une zone claire longe de part et d'autre de ce "raphé médian" les deux membranes plasmiques (fig. 22 c). Dans chaque cellule une zone claire sépare aussi dans le territoire intracytoplasmique, le feuillet interne de la membrane plasmique de la densification rencontrée habituellement au niveau de ces structures, et désignée généralement sous le nom de "plaque dense". C'est au niveau de cette plaque dense que viennent s'attacher les tonofilaments, que nous n'avons pu différencier morphologiquement des filaments gliaux. Sur le bord externe de la "plaque dense" on peut distinguer des stries groupées par paires (fig. 22 d), séparées par des espaces clairs représentant peut-être la structure en "épingle à cheveux" des tonofilaments, décrite dans les desmosomes de Vertébrés par Kelly (1966).

On trouve des formations assez analogues à celles que nous venons de décrire, aux carrefours de plusieurs cellules, ce qui peut donner aux espaces extracellulaires des formes polygonales variées (fig. 22 a et b). Dans ces conditions, les distances qui séparent les membranes plasmiques de deux cellules se faisant face, peuvent atteindre des valeurs de 7 à 8.000 Å. La substance, peu dense aux électrons, qui remplit ces espaces extracellulaires est souvent parsemée d'inclusions plus denses de 600 à 800 Å de diamètre.

Dans ce type de structure on trouve une ligne de faible densité électronique, de part et d'autre de la membrane plasmique ; cette zone claire étant à son tour bordée d'une zone très dense de faible largeur.

d - Discussion

Cette rapide étude du tissu non-nerveux du cérébroïde et de la chaîne nerveuse ventrale, nous a permis de retrouver un certain nombre de caractères cytologiques déjà décrits chez différents représentants des trois classes d'Annélides, et de mettre en évidence quelques faits nouveaux. C'est évidemment avec les travaux de Baskin sur les Nereidae que nous avons le plus de points de convergence. Nous ne sommes cependant pas convaincus, comme semble l'être cet auteur, de la réalité d'une catégorie particulière de cellules gliales désignées par lui comme granulocytes. Il y a sûrement, comme nous en avons fourni quelques exemples, des territoires cellulaires où des granules ayant la même allure que ceux trouvés par Baskin chez Nereis, semblent les seules formations présentes. Il nous paraît cependant fort probable que ces organites, en position inconstante dans le cytoplasme, ont une distribution très irrégulière, et les territoires cellulaires très fragmentaires observés sur une coupe ne peuvent conduire à des conclusions valables pour la totalité de la cellule en cause.

La nature chimique du contenu de ces granules demeure inconnue. Nous n'avons pu réaliser de réactions cytochimiques, pour la mise en évidence des phosphatases acides, suffisamment électives pour nous permettre de conclure à la présence d'enzymes de ce type. L'allure très homogène du contenu des granules ne nous incline pas à les considérer comme des structures du type lysosomiale . Nous avons cependant trouvé des granules tout à fait comparables morphologiquement, dans des cellules appartenant à des territoires en cours de régénération.

Quoiqu'il en soit il semble bien que nous nous trouvons devant des formations très voisines, sinon identiques, à celles trouvées dans la glie où le tissu glio-interstitiel des Mollusques. Nicaise (1972) en a fait une étude cytochimique poussée chez divers Nudibranches, et n'a pu trancher définitivement sur la nature chimique du contenu de ces granules. Cet auteur retient

en priorité l'hypothèse qu'ils constituent une réserve ionique de cations, comme le sodium ou le calcium, dont on connaît toute l'importance dans la conduction nerveuse. Treherne et coll. (1969) ont supposé que le réservoir de sodium, mis en évidence dans le connectif cérébro-viscéral de l'Anodonte, pouvait se trouver dans les granules gliaux.

Nicaise a utilisé la plupart des méthodes, actuellement à notre disposition, pour la détection cytochimique du sodium et du calcium ; il ne semble pas avoir obtenu de certitude et conclut son travail ainsi : "notre étude histochimique a, jusqu'à présent, donné des résultats qui sont compatibles avec l'hypothèse d'une réserve ionique dans les granules glio-interstitiels. Ces granules pourraient même libérer des quantités importantes de calcium, ce qui ne veut pas dire que ce soit là leur fonction la plus significative..". Il semble nécessaire, pour s'assurer de façon incontestable de la nature du contenu de ces granules gliaux, de pouvoir disposer des techniques de microanalyse par rayons X et d'apporter par ce moyen des informations irréfutables sur le rôle, supposé primordial, de la glie dans l'environnement ionique du neurone.

En ce qui concerne les filaments, que nous avons retrouvé en grande abondance dans notre matériel, il s'agit très certainement des mêmes formations que celles décrites chez les Oligochètes par Coggeshall (1965) et Zimmmerman (1968), chez les Hirudinées par Gray et Guillery (1963), Coggeshall et Fawcett (1964), et enfin chez d'autres Polychètes par Baskin (1971). Il est très vraisemblable d'ailleurs qu'il s'agisse des mêmes formations que celles trouvées chez les Vertébrés, et dont l'étude la plus récente, à notre connaissance, a été faite par Wuerker (1970). Le rôle physiologique attribué le plus généralement à ces structures filamenteuses est de constituer une sorte de cyto-squelette. A ce rôle de soutien participeraient sans doute aussi, en assurant une solidarité inter-cellulaire, les différenciations cellulaires que nous avons décrites sous le nom de desmosomes, en raison de leurs grandes

analogies morphologiques avec les structures de même nom, bien connues dans les épithéliums de Vertébrés. Seule paraît différente la nature du matériel intercellulaire.

Des formations très comparables ont déjà été décrites chez Aphrodite par Fawcett (1966, p. 373) et chez Nereis par Baskin (1971). Tout comme ce dernier auteur nous n'avons jamais observé de jonctions desmosomiales entre neurones et cellules gliales, comme il en a été signalé chez Hirudo par Coggeshall et Fawcett (1964) et chez Lumbricus par Coggeshall (1965). A la description de Baskin nous avons pu ajouter quelques remarques de détail, et surtout observer des structures de ce type au niveau d'espaces extra-cellulaires beaucoup plus considérables que ceux que cet auteur avait rencontré chez Nereis. C'est la dimension de ces espaces extracellulaires qui nous paraît être le fait le plus intéressant. Il ne fait pas de doute pour nous que cette disposition anatomique doit être mise en relation avec l'absence d'irrigation du système nerveux central, fait général chez les Annélides, et avec le caractère avasculaire de la circulation, fait particulier aux Glyceridae. Il est bien tentant de penser que les nombreuses et souvent vastes lacunes que nous avons décrites chez G. convoluta, aussi bien dans le cérébroïde que dans la chaîne nerveuse ventrale, soient le lieu de passage privilégié de substances variées et notamment de transporteurs d'oxygène.

B - LES TYPES CELLULAIRES DU TISSU NERVEUX

Les premières études cytologiques concernant le système nerveux des Annélides sont assez anciennes et les travaux de Hamaker (1898), Holmgren (1916), Hanström (1927, 1928) et Dehorne (1935, 1936) comportent déjà un certain nombre d'indications sur les différentes catégories cellulaires que ces auteurs, avec les méthodes alors à leur disposition, ont essayé de distinguer. A partir de 1936 la découverte de la neurosécrétion devait conduire à d'actives recherches. Celles de B. Scharrer (1936) sur Nereis virens sont les premières que nous devons signaler ; elles furent suivies par celles de Schaeffer

(1939), puis de Bobin et Durchon (1952, 1953), Defretin (1952, 1953, 1955), Hauenschild (1959), Herlant-Meewis et Van Damme (1962), Hauenschild et Fischer (1962) et Takeuchi (1965); tous ces travaux portent sur les Nereidae. Clark R.B. (1955, 1956 et 1959) étudie les Nephthyidae et Howie (1962, 1963, 1965 et 1966), Arenicola marina, seule Polychète sédentaire à avoir été étudiée de ce point de vue.

Plus récemment, utilisant des techniques histochimiques en corrélation avec la microscopie électronique, Dhainaut-Courtois (1964, 1966 a, b, c, 1967, 1968 a et b, 1970), Dhainaut-Courtois et Warembourg (1967, 1969 a et b, 1970) et Golding (1967), ont apporté beaucoup d'informations sur la cytologie des neurones du système nerveux central des Nereidae. Cependant que se développaient ces recherches cytologiques concernant les Polychètes, les autres classes d'Annélides étaient aussi activement étudiées. Pour nous limiter aux plus récents travaux, faisant généralement appel à la microscopie électronique, citons, pour ce qui concerne les Oligochètes, Herlant-Meewis (1955, 1956, 1957, 1959), Scharrer et Brown (1961, 1962 a et b), Rohlich et coll. (1962), Pellegrino de Iraldi et de Robertis (1962), Coggeshall (1965), Oosaki (1966), Teichman et Aros (1966), Teichman et Coll. (1966), Rude (1966), Myhrberg (1967), Berjon et Meunier (1968), Takeuchi (1968), Zimmerman (1970). Pour les Hirudinées nous devons citer : Hagadorn (1958, 1962 a et b, 1966 a et b), Hagadorn et Coll. (1963), Gray et Guillery (1963), Coggeshall et Fawcett (1964), Myhrberg (1965), Kerkut et Coll. (1967), Ehinger et Coll. (1958), Rude et Coll. (1969), Bianchi (1969).

L'ensemble de ces travaux, dans la totalité de l'embranchement qui nous occupe, a été dominé par le problème de la nature des structures vésiculaires, dans les neurones centraux des Annélides. Le recoupement des méthodes histochimiques (fuchsine-paraldéhyde d'une part et technique d'histofluorescence de Falck d'autre part), par les investigations en microscopie électronique, ont constitué l'essentiel des préoccupations des auteurs que nous avons cités.

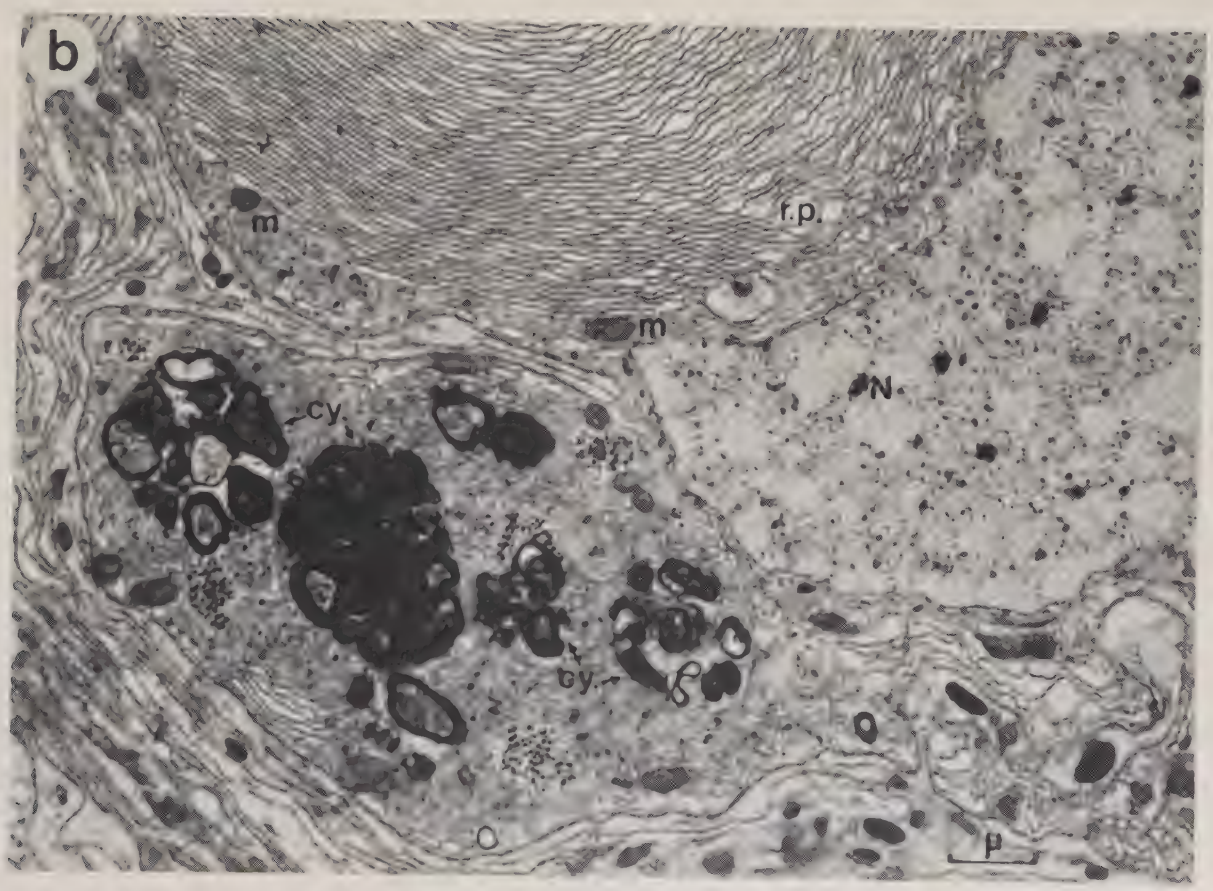
fig. 23 - a) coupe transversale du ganglion cérébroïde au niveau du nucleus I. x 120.

c.p.: collier peri-oesophagien, N_1,N_2: neurones géants, I: nucleus I.

b) coupe au niveau d'une cellule du nucleus I- x 10.500

cy.: cytolysome, m: mitochondrie, r.p.: reticulum lisse "photorécepteur", N: noyau.

a
N1
N'1
I
I'
n6
n'6
N2
N'2
c.p.
c.p.
100µ


b
m
r.p.
m
N
cy.
cy.
o
o
µ

D'autre part la microscopie électronique a révélé l'existence dans le cérébroïde de cellules nerveuses profondément transformées morphologiquement,et très vraisemblablement dévolues à un rôle sensoriel. C'est par un exemple de ce type cellulaire que nous commencerons l'étude cytologique du cérébroïde G. convoluta.

1°- CELLULES D'ALLURE PHOTORECEPTRICE

a - Description

Notre découverte de groupes cellulaires à allure de photorécepteurs, Manaranche (1968-1971),n'a fait qu'ajouter un nouvel exemple à l'inventaire que Bern faisait en 1967 sous un titre imagé : "On eyes that may not see and glands that may not secrete".

Pour les seules Annélides Polychètes, Dhainaut-Courtois (1965-1968), Hermans et Cloney (1966), Hermans (1969), Zahid et Golding (1974) ont signalé des structures apparentées à celles que nous avons décrites, cependant que Röhlich et Coll. (1970) ont étudié le seul exemple jusqu'ici connu chez les Oligochètes.

Nous avons utilisé en microscopie électronique les techniques décrites plus haut (cf. techniques morphologiques). En microscopie optique c'est la coloration au Bleu Alcian, Hémalun, Ponceau de xylidine qui nous a fourni les images les plus lisibles. Nous avons également utilisé la coloration de Karli (1957), proposée par cet auteur pour la mise en évidence de la rhodopsine.

L'examen en microscopie photonique à l'immersion, des préparations colorées au Bleu Alcian-Hémalun-Ponceau de xylidine,permet de voir que le cytoplasme des cellules constituant le nucleus I ci-dessus décrit (cf p. 14) (fig. 23 a) est envahi par des structures membranaires disposées de façon approximativement parallèle. La méthode de Karli colore par le Bleu Lumière assez électivement ces formations.

fig. 24 - coupe au niveau de plusieurs cellules du nucleus I . x9.500

cy.: cytolysome, gl.: cellules gliales, N: noyau,
r.p.: reticulum lisse "photorécepteur".

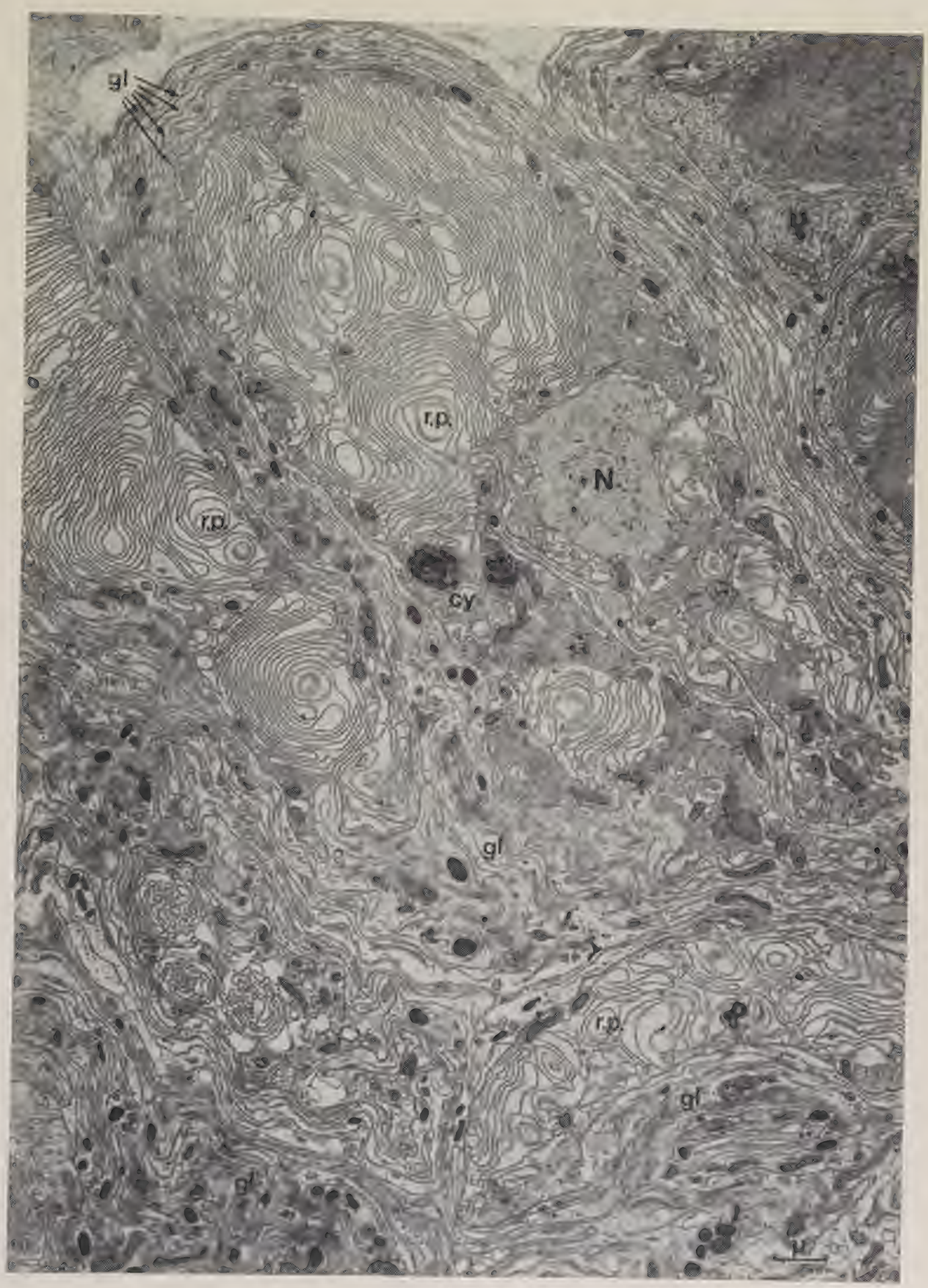

gl
r.p.
N
r.p.
cy
gl
r.p.
gl
gl

fig. 25 - coupe au niveau d'une cellule du nucleus I montrant les replis du reticulum lisse "photorécepteur".x52.000.

g.: granule glial, gl.: cellule gliale, m.: mitochondrie, r.p.: reticulum lisse "photorécepteur".

g
gl
g
r.p.
g
m
m
g
0.2μ

Au microscope électronique on observe, même à faible grossissement, (fig. 23 b, 24 et 25), un empilement de sacs aplatis, limités par une membrane, et qui envahissent dans une proportion variable les quelques 60 cellules constituant les noyaux I (droit et gauche). A un plus fort grossissement (fig. 26 a et b), l'observation de coupes perpendiculaires à ces empilements permet de s'assurer que ceux-ci résultent de l'invagination de la membrane ergastoplasmique dans la cavité dilatée du reticulum. On retrouve à la périphérie de la citerne ergastoplasmique les ribosomes caractéristiques de cette formation ; ces ribosomes sont absents de la membrane à partir de son point d'invagination. C'est en se repliant plusieurs fois sur elle-même que cette membrane ergastoplasmique arrive à constituer ces amas volumineux, qui, sur certains plans de coupe envahissent la totalité du territoire cellulaire. Il est remarquable que la distance entre les deux membranes limitant un de ces sacs étroits soit très constante : de l'ordre de 125 Å. Ces formations sont généralement disposées en séries nombreuses, parallèles les unes aux autres, séparées par une distance assez variable, dont la valeur moyenne est de 750 Å. Chaque sac, suit dans la cavité ergastoplasmique, où il s'invagine, un parcours plus ou moins long, plus ou moins flexueux. Il peut se terminer brièvement et alors son extrémité est aveugle ; ou bien se replier sur lui-même en décrivant une anse dont les 2 bords sont parallèles sur la plus grande partie de son parcours (fig. 25). Ou enfin, et c'est un cas fréquent que l'on observe sur les coupes, il débouche sur la paroi opposée à son point d'invagination. Il fait alors communiquer, de part et d'autre de la cavité ergastoplasmique, deux territoires cytoplasmiques (fig. 26). Au hasard des plans de coupe, certains arrangements apparaissent concentriques (fig. 24). Il s'agit alors de plusieurs invaginations en forme d'anses parallèles qui, coupées perpendiculairement à l'axe de symétrie de ces anses, donnent des images concentriques, comparables à celles que fourniraient des coupes profondes, emboîtées les unes dans les autres et coupées transversalement.

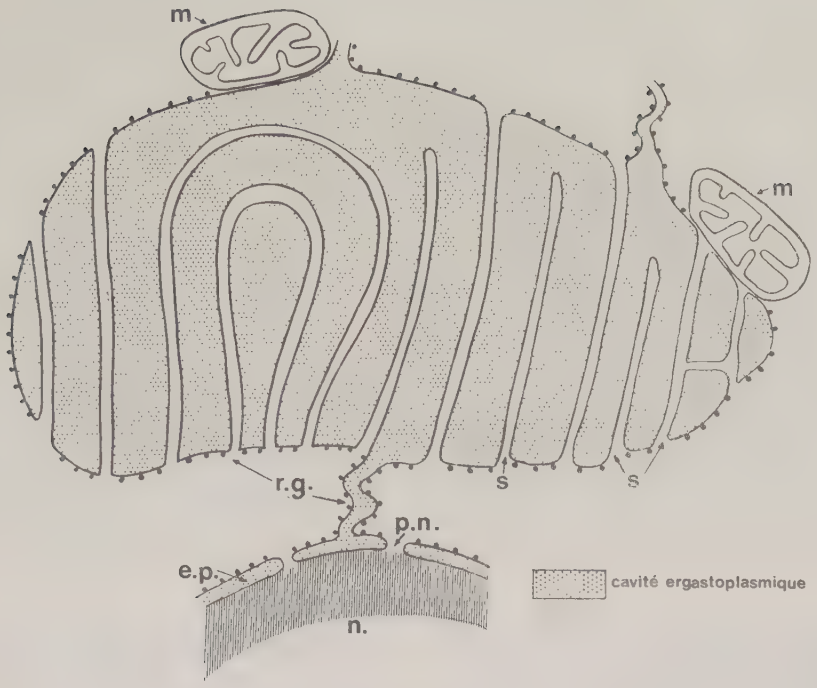


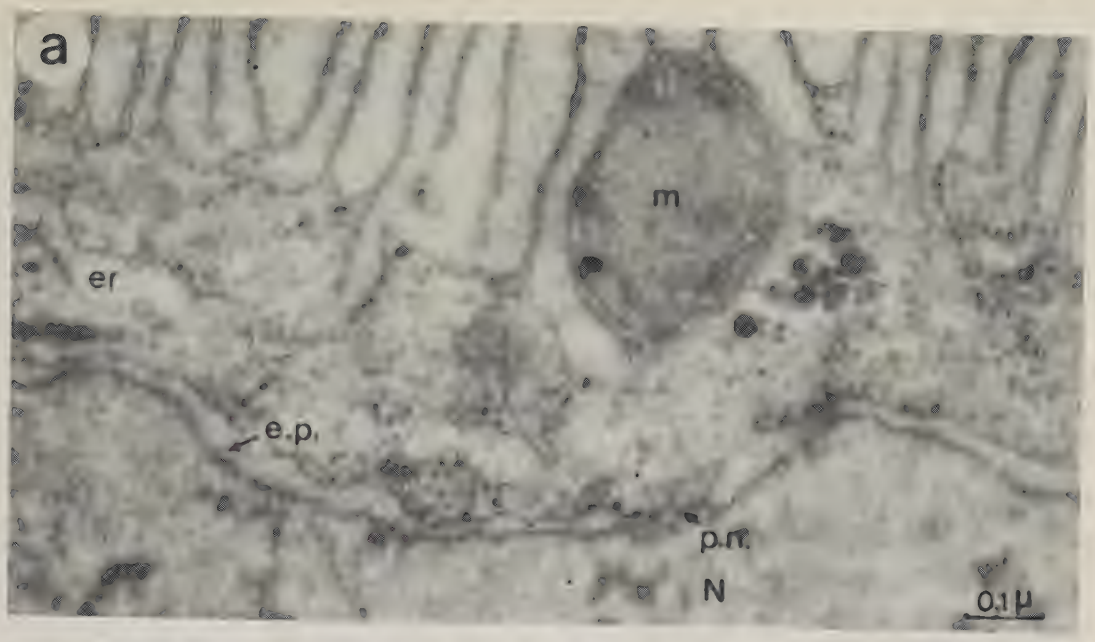
fig. 26 - schéma des formations membranaires dans une cellule du nucleus I.
e.p.: espace périnucléaire, m: mitochondrie, n: noyau
p.n.: pore nucléaire, r.g.: reticulum granulaire, s: sacs formés par l'invagination du reticulum lisse dans la citerne ergastoplasmique.

Ce qui nous semble important (et commun à tous ces arrangements spatiaux), c'est que l'intérieur de chaque sac est en continuité avec le cytoplasme, alors que l'espace entre les sacs appartient à la citerne ergastoplasmique. A un grossissement suffisant, on voit très bien d'ailleurs (fig. 27 a et b) que l'intérieur du sac est de la même densité aux électrons que le cytoplasme environnant, alors que l'espace entre chaque élément est beaucoup moins dense. Sur la face externe de la membrane limitant le sac, on observe un fin précipité qui donne une densification sur les coupes plus ou moins tangentielles. En certains points privilégiés des préparations on peut vérifier la continuité entre l'espace périnucléaire, la cavité ergastoplasmique et l'espace intersacculaire (fig. 27 a et b). Dans le territoire cytoplasmique demeuré libre de ces formations, on observe les organites cellulaires habituelles : appareil de Golgi très développé, abondance de vésicules de 600 à 700 Å de diamètre moyennement dense aux électrons, très volumineuses formations (fig. 23 b et 24) au contenu en partie membranaire, (d'allure myeloïde) avec des

fig. 27 a et b) coupes au niveau de 2 cellules du nucleus I montrant les relations entre, l'espace périnucléaire, la cavité ergastoplasmique et les membranes "photoréceptrices".

a: x 110.000, b: x 85.000.

e.p.: espace périnucléaire, er.: cavité ergastoplasmique, G.: appareil de Golgi, m.; mitochondrie, N: noyau, p.n.: pore nucléaire, v.: vésicules.


a
m
er
e.p.
p.m.
N
0.1 µ

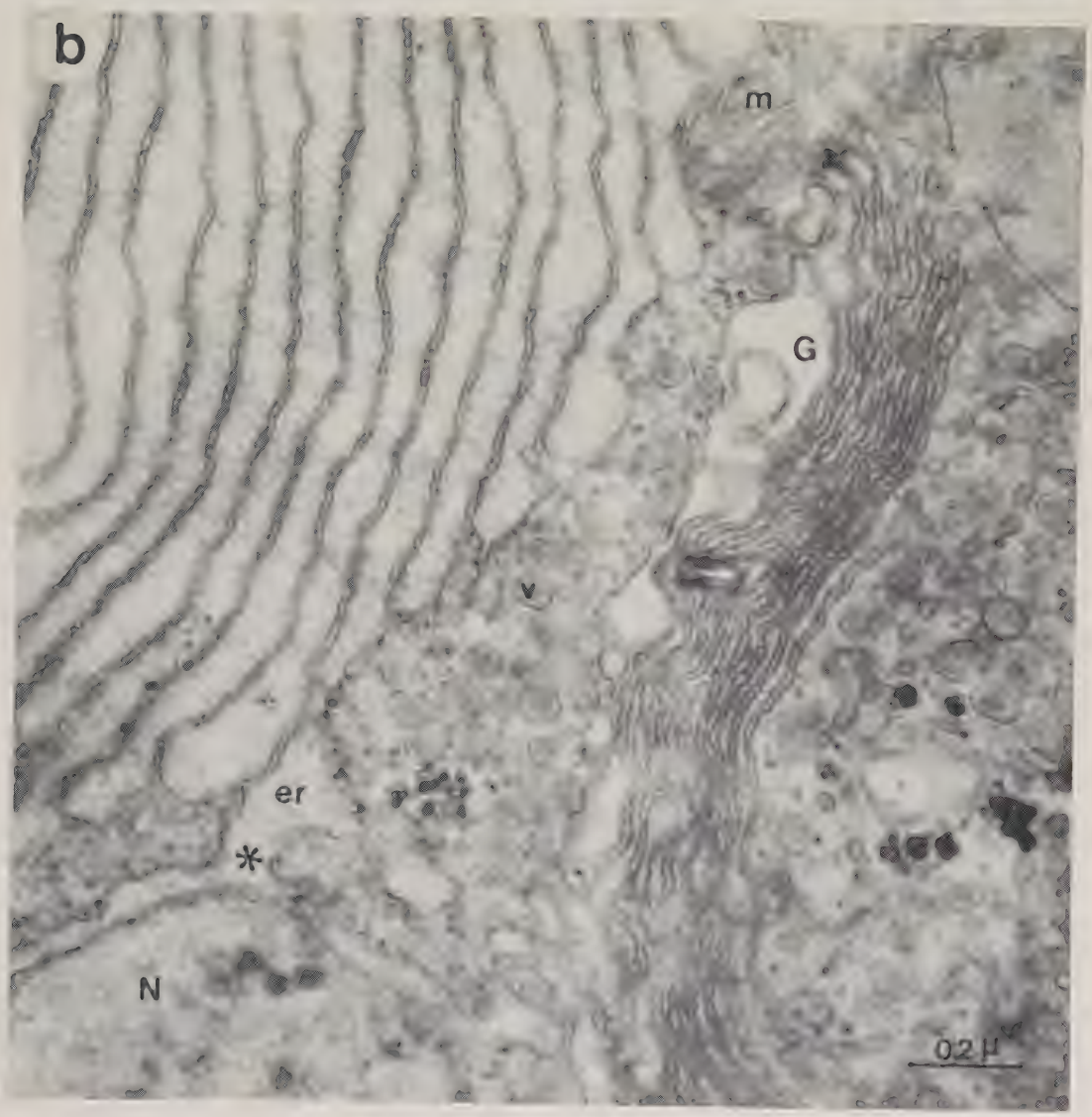

b
m
G
v
er
*
N
0.2 µ

fig. 28 - coupe au niveau d'une cellule du nucleus I, montrant l'étroit accolement entre mitochondries et membrane du reticulum lisse "photorécepteur". x II5.000.
m. : mitochondrie, s.: sac du reticulum lisse "photorécepteur".

m
m
m
s
0,1μ

inclusions parfois très denses. Bien que nos nombreux échecs pour la mise en évidence des phosphatases acides ne nous aient pas permis de vérifier la présence d'enzymes lytiques, il semble bien que nous ayons à faire à des cytolysomes.

La présence constante de mitochondries, étroitement associées au reticulum, est enfin fortement évocatrice de transferts d'énergie à ce niveau (fig. 28).

Les cellules que nous venons de décrire sont, comme tous les neurones du cérébroïde, enveloppées de plusieurs couches de glie dans lesquelles on retrouve fréquemment les inclusions ovoïdes dont nous avons plus haut signalé la présence sous le nom de granules gliaux (fig. 24 et 25).

b - Discussion

Les cellules composant le nucleus I, dont nous venons de décrire l'ultrastructure, sont à plusieurs points de vue assez différentes des structures connues dans divers phyla comme ayant une fonction photoréceptrice.

D'abord elles sont largement séparées du milieu ambiant, (et par conséquent des sources lumineuses naturelles) par l'épiderme et par une épaisse couche musculaire, de sorte que la question se pose de savoir si des stimuli lumineux peuvent franchir ces écrans.

Ensuite ces formations sacculaires ne correspondent pas exactement au type ciliaire, ni au type rhabdomérique, auxquels on a tenté de ramener l'ensemble des photo-récepteurs jusqu'ici décrits (Eakin 1965-1968).
Il nous paraît opportun de discuter successivement ces deux problèmes.

α) Les cellules composant le ganglion I peuvent-elles avoir un rôle photorécepteur ?

Il importe de reconnaître d'abord que nous n'avons pu mettre en évidence un phototropisme net, négatif ou positif, chez G. convoluta. Les

quelques expériences de comportement, à l'égard de la lumière, que nous avons tentées n'ont nullement été concluantes ; il faudrait sans doute les reprendre en utilisant notamment des radiations de diverses longueurs d'onde.

Nous n'avons pas non plus réussi à extraire, à partir d'homogénats de cérébroïdes, une substance appartenant au groupe des pigments visuels habituels.

Nous pensons enfin qu'il est difficile d'apporter une preuve électrophysiologique, en raison de la morphologie et de la dimension de ces organes.

Nous en sommes par conséquent réduits à rechercher des analogies morphologiques avec des formations décrites ailleurs, dont la fonction a pu être démontrée, et la présence d'un pigment visuel contrôlée.

Chez les Céphalopodes, dans le corps épistellaire des Octopodes, et dans les vésicules parolfactives des Décapodes, Nishioka et Coll. (1960) ont démontré la présence de rhodopsine et de vitamine A_1 ; il s'agit là de structures dont la fonction photoréceptrice ne fait guère de doute, et qui sont cependant encore plus éloignées de la surface du corps de l'animal que les cellules que nous étudions ici.

La liste des organes qui, sans être à proprement parler visuels, mais dont la sensibilité à la lumière est certaine, est déjà longue. Il en existe non seulement chez les Invertébrés mais aussi chez les Vertébrés, si l'on songe aux organes frontaux, pariétaux et pinéaux des Poissons, des Amphibiens et des Reptiles (revue in Van de Kamer 1965), ainsi que des Oiseaux (Bischoff 1969). Chez les Céphalocordés, les cellules "de Joseph" de l'Amphioxus sont situées dans le cérébroïde, et isolées du milieu ambiant (Welsch 1968).

Chez les Invertébrés supérieurs que sont les Arthropodes, nous pouvons citer : les photorécepteurs du ganglion postérieur de l'Ecrevisse (étudiés par Uchizono (1961), Kennedy (1963) et Larimer (1966), l'oeil nauplien et les organes frontaux des Décapodes (décrits par Elofson (1963) et Aoto (1963), le rôle photorécepteur du cerveau de Pieris brassicae (établi par Claret (1966). Toujours chez les Insectes, Williams (1963) a démontré que

la lumière pénétrait dans la pupe d'Anthera penyi, et agissait sur le cérébroïde pour déterminer la durée de la diapause.

En ce qui concerne les seuls Annélides Polychètes, Dhainaut-Courtois (1965-1970) a décrit dans le cérébroïde de Nereis pelagica au niveau du noyau 19, des cellules auxquelles elle attribue une fonction photoréceptrice en raison de leur infrastructure. Chez les Nephthydiens, Zahid et Golding (1974) ont récemment décrit dans la région postérieure du cérébroïde des formations que, à la suite de Clark (1956) qui les avait décrit en microscopie optique, ils n'hésitent pas, sur la base d'une étude ultrastructurale, à qualifier de photoréceptrices. Chez Armandia brevis (Opheliidae), Hermans et Cloney (1966) ont étudié en microscopie électronique des cellules à allure photoréceptrice entourées d'une coupe pigmentée, situées dans une position tout à fait comparable à celles du ganglion I de G. conv luta. Chez les Oligochètes, Rohlich et Coll. (1970) ont décrit des cellules photoréceptrices à la fois dans l'épiderme, dans les nerfs, et dans le cérébroïde de Lumbricus terrestris.

Cette revue, sans doute incomplète, montre que des structures cellulaires présumées photoréceptrices, en raison de leur morphologie, tendent à devenir banales dans beaucoup de phyla et notamment chez les Annélides. Notons cependant que rares sont les exemples pour lesquels des preuves physiologiques ou biochimiques ont été apportées.

Pour ce qui concerne les Glyceridae, l'absence d'organes visuels à la surface du prostomium est étonnante, d'autant que, comme nous allons le voir, à certaines périodes de l'année une photo-sensibilité relativement fine semble nécessaire à la biologie de la reproduction de cet animal. Notons qu'Åkesson (1968) a signalé la présence inconstante d'yeux intracérébraux chez la larve de G. alba. Il est possible qu'une étude ultrastructurale des différents stades du développement, permette une meilleure compréhension des formations que nous étudions ici.

A l'état adulte les Glyceridae présentent des formes épitoques au moment de la reproduction, et effectuent sans doute des essaimages en corrélation avec les phases lunaires. Ces particularités biologiques bien connues chez les Nereidiens et les Euniciens, où elles prennent des allures très spectaculaires, ont été retrouvées sous une forme beaucoup plus discrète chez diverses espèces de Glycera par Fage et Legendre (1927), Gravier et Dantan (1928), Simpson (1962). On peut avancer l'hypothèse que chez ces Polychètes réputées aveugles, une photosensibilité s'exerce au moyen des cellules du ganglion I. La proximité de nombreuses cellules neurosécrétrices au voisinage de ce ganglion suggère l'existence d'une voie endocrinienne, qui à partir de stimuli lumineux déclencherait l'épitoquie et l'essaimage.

β) A quel type morphologique d'organes photorécepteurs peuvent s'apparenter les cellules du ganglion I ?

Eakin (1963-1965-1968) a proposé de distinguer deux types fondamentaux de photorécepteurs :

- le type ciliaire ;
- le type rhabdomérique.

Les photorécepteurs de type ciliaire se présentent sous la forme de disques ou de tubules, qui naissent et se développent en étroite relation avec une racine ciliaire ; les photorécepteurs de type rhabdomérique dépourvus d'organes ciliaires sont constitués de microvillosités diversement disposées. Pour Eakin tous les embranchements de Métazoaires s'ordonneraient selon deux lignes évolutives :

- Cnidaires, Cténaires, Chaetognathes, Echinodermes, Céphalocordés et Vertébrés appartenant à la lignée des photorécepteurs de type ciliaire.
- Plathelminthes, Rotifères, Mollusques, Annélides, Onychophores, et Arthropodes appartenant au contraire à la lignée des photorécepteurs de type rhabdomérique. Les exceptions à cette classification dichotomique sont nombreuses, Eakin lui-même en a convenu. Dans le seul embranchement des Polychètes les

deux types se rencontrent, ainsi que des types intermédiaires, preuve supplémentaire sans doute du polyphylétisme de ce groupe.

Chez un Sabellidae: Branchiomma vesiculosum, Krasne et Laurence (1966) ont trouvé des cils au niveau des ocelles branchiaux. Dans cette même famille, Kerneis (1966-1968 et 1971) a également montré l'origine ciliaire des sacs lamellaires contenus dans les cellules photoréceptrices du panache branchial de Dasychone bombyx, et de Potamilla reniformis. D'autre part chez les Nereidae : Fischer et Brokelman (1966), Eakin (1968), Dorsett et Hyde (1968), ont décrit des photorécepteurs indiscutablement apparentés au type rhabdomérique, et possédant cependant un cil rudimentaire et une racine ciliaire. Ces deux différenciations : microvillosités de type rhabdomérique, et racines ciliaires, ont également été observées dans les organes photorécepteurs de Syllidae par Bocquet et Dhainaut-Courtois (1973).

Au type purement rhabdomérique appartiennent sans aucun doute les éléments photorécepteurs décrits par Zahid et Golding (1974), dans le cérébroïde des Nephtyidae. A ce même type rhabdomérique on doit rattacher les ocelles prostomiaux et les cellules photoréceptrices du cérébroïde d'une Opheliidae (Armandia brevis), décrits par Hermans et Cloney (1966).
Dans les autres classes d'Annélides : Oligochètes et Hirudinées, la même diversité semble exister. La seule étude, faite à notre connaissance chez les Oligochètes (Lumbricus terrestris), a révélé aux auteurs de ce travail (Röhlich et coll. 1970) la présence de cils, indépendants structuralement des microvillosités qui remplissent la cavité centrale (rhabdosome) des cellules photoréceptrices situées dans l'épiderme, les racines nerveuses prostomiales et le cérébroïde du lombric.

Les Hirudinées ont fait l'objet d'un assez grand nombre de travaux portant sur le sujet qui nous occupe ici. Chez Hirudo medicinalis, les structures photoréceptrices étudiées par Röhlich et Torök (1964), Yanase et coll. (1964), Walther (1966) et White et Walther (1969), ne présentent pas de

formations ciliaires en relation avec les microvillosités intracellulaires. Par contre chez une sangsue de l'ordre des Rhynchobdellidae (Helobdella stagnalis), Clark (1967) a observé une paire de centrioles à proximité des microvillosités rhabdomériques de la cellule photoréceptrice.

Cette revue rapide des structures photoréceptrices chez les Annélides, nous permet d'apprécier l'extrême diversité des formations de ce type au sein de cet embranchement. Si les cellules constituant le nucleus I du cérébroïde de G. convoluta ont bien une fonction photoréceptrice, il nous faut admettre que nous avons affaire à un type nouveau d'organe de ce genre. Les formations, présumées ici photoréceptrices, sont dépourvues de cils, mais cependant l'empilement de sacs aplatis qui les constitue ressemble beaucoup plus à ce que l'on trouve dans des cellules rétiniennes qu'à des rhabdomères. Au contraire des disques, caractéristiques des cellules en "cône" ou en "bâtonnet", les saccules que nous décrivons ci-dessus sont en relation avec la membrane ergastoplasmique, et non avec la membrane plasmique. Si des photorécepteurs décrits notamment chez les Oligochètes et les Hirudinées offrent comme ceux de G. convoluta la particularité de comporter des replis membranaires situés dans une cavité intracellulaire (phaosome), ils en diffèrent par l'absence de relation avec l'ergastoplasme. Les cellules en "bâtonnet" de la rétine des Amphibiens, décrites par Röhlich (1970), présentent une continuité entre la membrane du reticulum lisse, et celle des disques du segment externe. C'est sans doute la formation connue la plus voisine de celle que nous avons observée chez G. convoluta, encore que dans ce dernier cas il s'agisse de la continuité des formations présumées photoréceptrices, avec le reticulum granulaire.

Au stade actuel de nos connaissances nous ne pouvons que constater l'extrême diversité morphologique des organes photorécepteurs. Leur variabilité au sein d'un même embranchement, voire d'une même classe, rend périlleux à notre avis tout rapprochement phylogénétique tenté sur cette base.

Ce qui semble commun à tous les types de photorécepteurs connus, c'est l'abondance de replis membranaires, plus ou moins parallèles, offrant un vaste support au pigment photosensible exposé à la source lumineuse. C'est ce caractère, présent dans les formations que nous avons décrites chez G. convoluta, qui nous incline à les considérer comme susceptibles de jouer un rôle photorécepteur.

2° - LES CELLULES NERVEUSES NON SENSORIELLES

Mis à part l'étude de l'appareil sacculaire de G. dibranchiata par Simpson (1959), et nos propres publications, aucun travail histologique ou cytologique concernant le système nerveux central des Glyceridae ne peut être cité depuis celui de Gravier (1898). Les quelques informations fournies par ce dernier auteur à l'aide des techniques pratiquées à son époque, ne permettent évidemment pas une quelconque interprétation cytophysiologique, du genre de celles auxquelles ont abouti les travaux rappelés plus haut, et relatifs à diverses familles de Polychètes.

Les résultats que nous a fournis notre étude, tant en microscopie optique qu'au niveau ultrastructural, et que nous décrivons ci-dessous, nous conduisent naturellement à rechercher des termes de comparaison dans d'autres familles de Polychètes. C'est chez les Nereidae, grâce surtout au travail récent de Dhainaut-Courtois (1970), que nous trouverons le plus souvent les références que nous cherchons.

L'étude en microscopie optique, menée en utilisant les techniques considérées comme relativement spécifiques de la neurosecrétion (fuchsine paraldéhyde selon Gabe ou hématoxyline chromique de Gomori), rend immédiatement compte de l'existence de deux grandes catégories neuronales : certaines cellules prenant plus ou moins intensément ces colorants, les autres demeurant à peu près indemnes de telles colorations. En première approximation nous pourrons donc désigner comme "neurones ordinaires" ces dernières cellules, les opposant aux autres que nous qualifierons provisoirement et par commodité de "neurosécrétoires".

fig. 29 - coupe au niveau de plusieurs neurones ordinaires (Type V de Dhainaut-Courtois) x II.000.

G.: appareil de Golgi, gl.: glycogène, r.g.: reticulum granulaire.

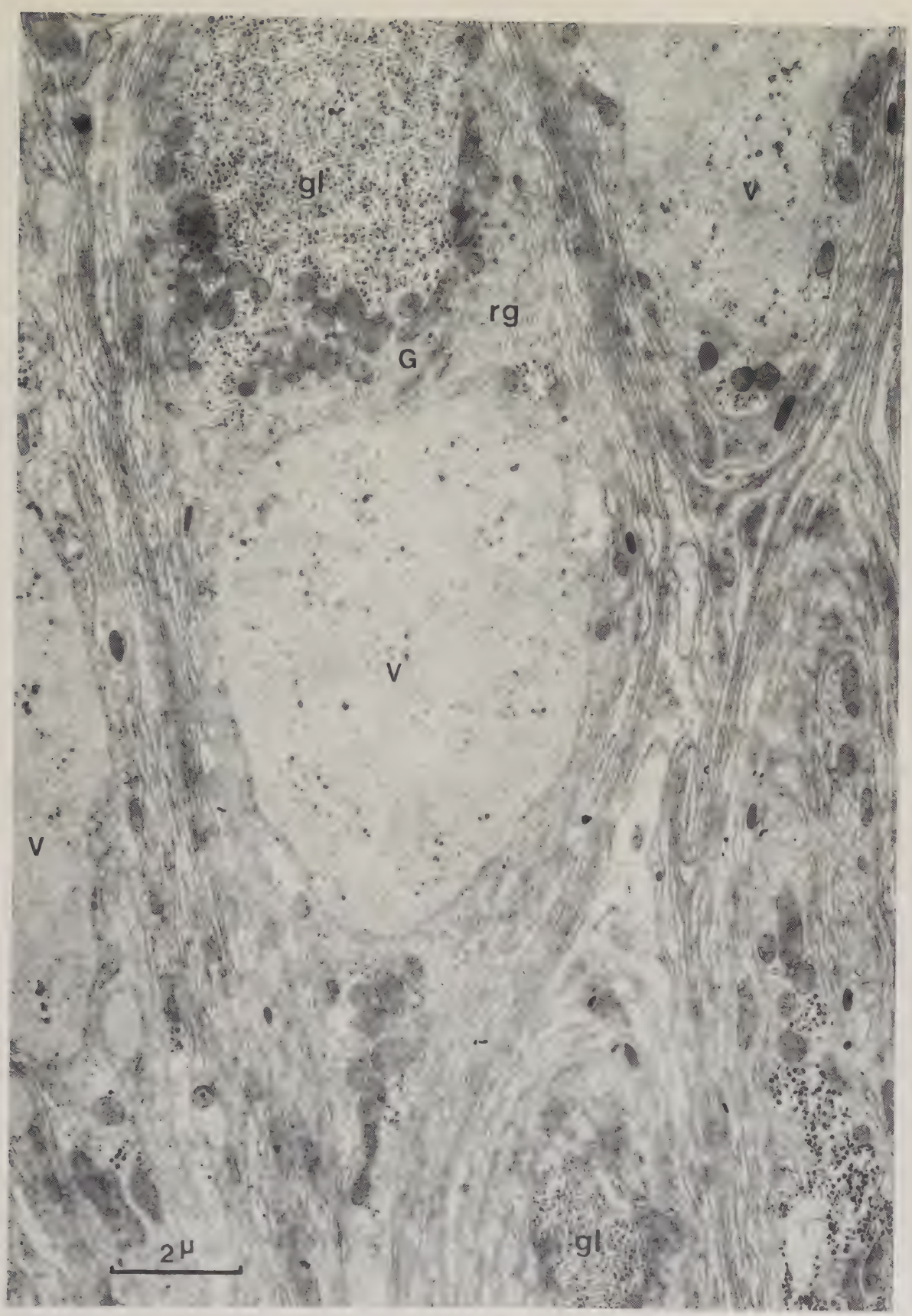
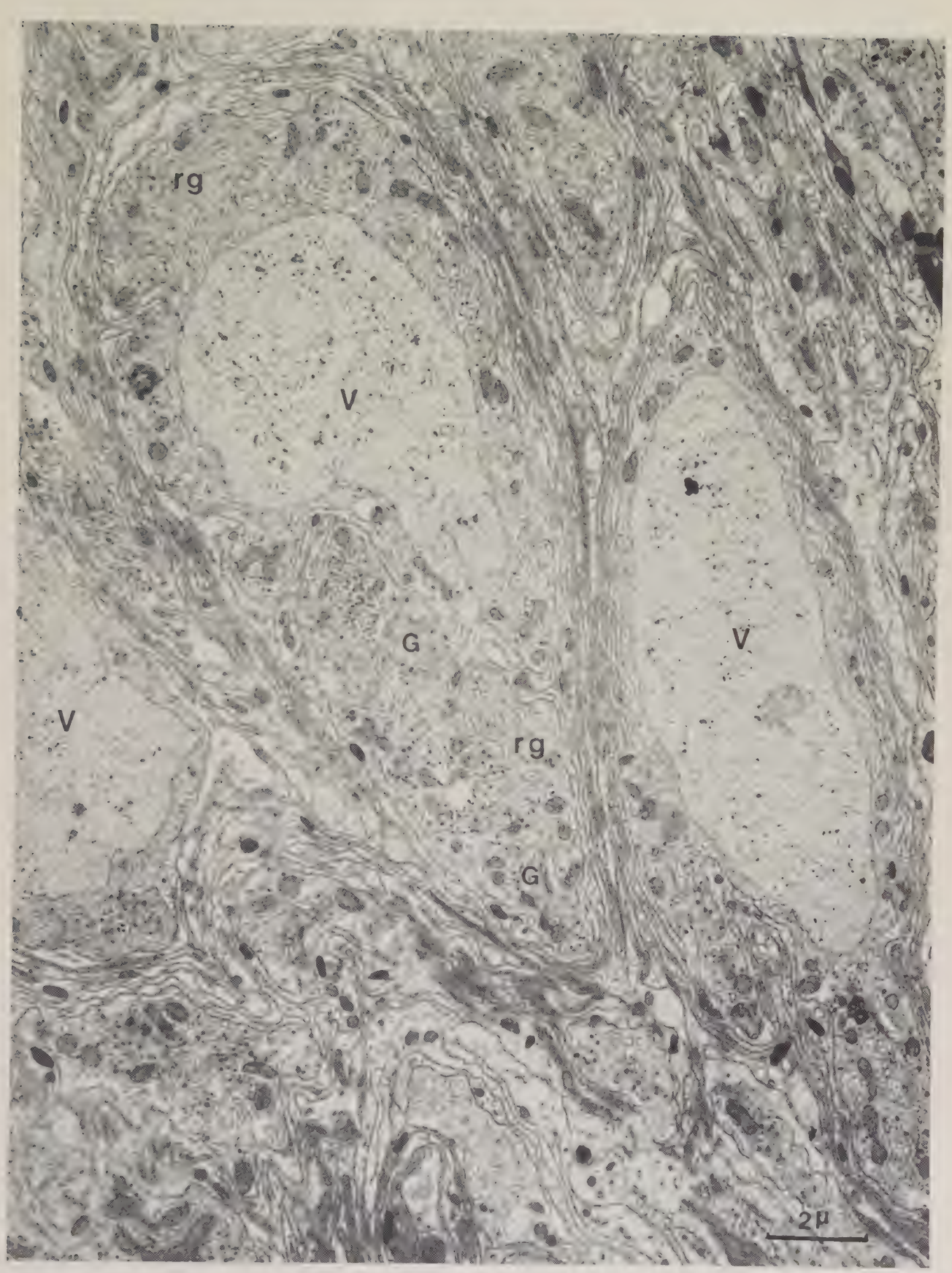

gl
V
rg
G
V
V
2μ
gl

fig. 30 - coupe au niveau de plusieurs neurones "ordinaires"
(Type V de Dhainaut-Courtois) x 9.000.
G.: appareil de Golgi, r.g.: reticulum granulaire.


rg
V
G
V
V
rg
G
2μ

a - Les neurones "ordinaires"

Les 4 paires de neurones que nous avons qualifié de "géants" en raison de leurs dimensions, qui n'excèdent cependant pas 55 µ, appartiennent sans doute à cette première catégorie.

Dans de nombreux ganglions, on note la présence de cellules dont le cytoplasme est très peu ou pas du tout coloré par la fuchsine paraldéhyde ou l'hématoxyline chromique ; nous les rangerons également dans cette catégorie des "neurones ordinaires".

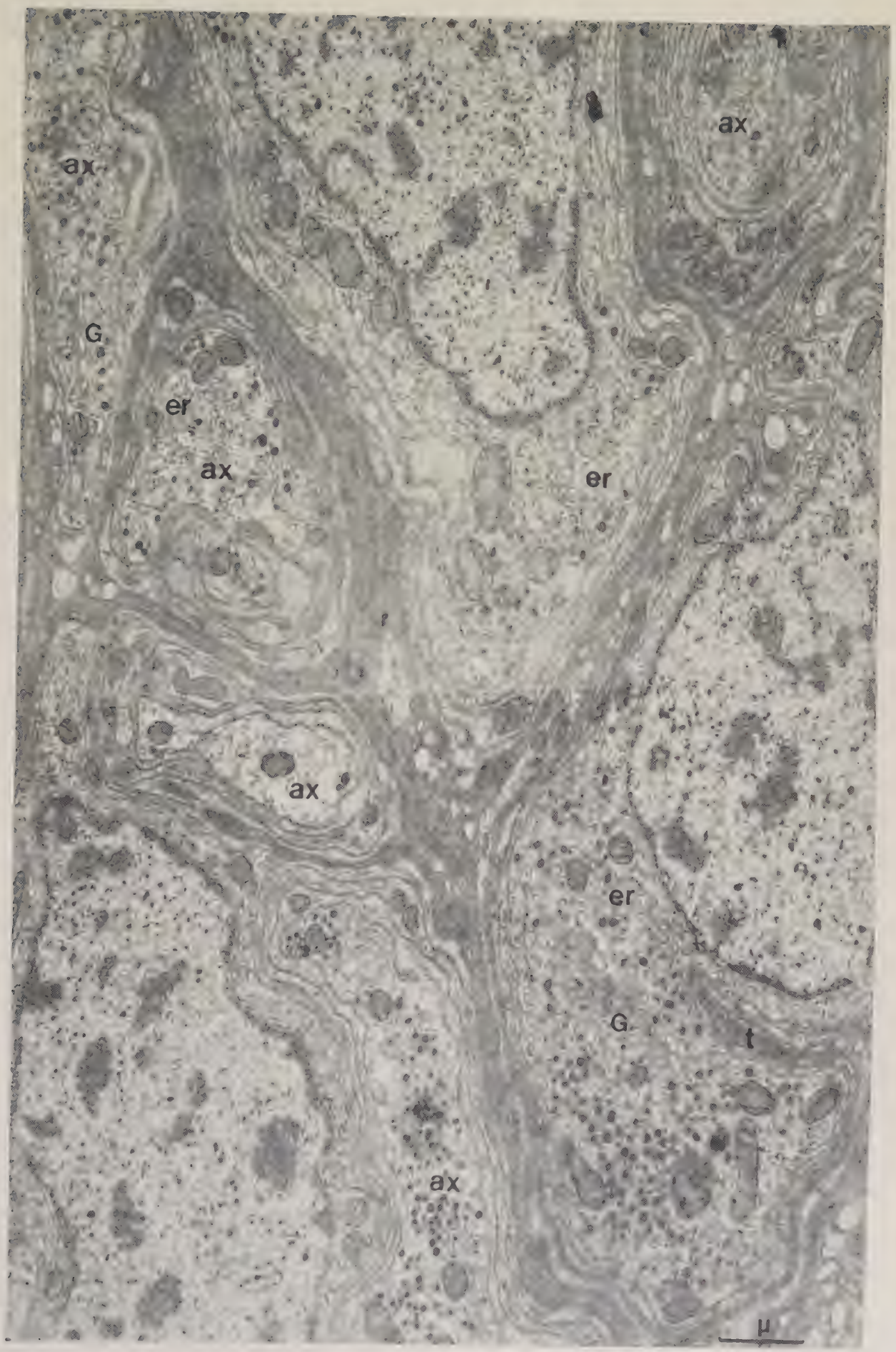
En microscopie électronique leur cytoplasme apparaît comme à peu près dépourvu de vésicules à contenu dense, ou comportant, épars, quelques éléments de ce type (fig. 29 et 30). Il s'agit le plus souvent de cellules monopolaires, piriformes, dont les dimensions moyennes sont de l'ordre de 10 x 15 µ, et que nous avons signalées dans notre description anatomique comme fréquentes dans la grande majorité des nucleus. Leur cytoplasme comporte toujours de nombreux corps de Golgi, à la périphérie desquels on note la présence de vésicules au contenu moyennement dense d'un diamètre de 1.000 Å environ. Les mitochondries sont très abondantes dans ces cellules, qui possèdent toujours un reticulum granulaire bien développé. Souvent la richesse en glycogène (fig. 29) est frappante, sans que l'on puisse évidemment exclure que des artéfacts de fixation soient responsables de la constitution de larges plages occupées par ces formations granuleuses.

Il est très vraisemblable que nous classons dans cette catégorie des neurones "ordinaires", une population d'éléments cellulaires très hétérogène, et qu'en fait, un bon nombre de ces neurones pourraient nous apparaître comme de type "neurosécrétoire" s'ils étaient examinés dans un autre état physiologique. Bien que nous n'ayons pas fait une étude systématique de ces types cellulaires en relation avec l'état sexuel des animaux, nous avons noté dans de nombreux cas l'état de maturité ou d'immaturité des échantillons au moment de la fixation, et il semble que toujours, des neurones du type de ceux que

fig. 31 - coupe au niveau de plusieurs neurones du nucleus II.

x I4.000.

ax.: axones des cellules du nucleus II, er.: ergastoplasme, G.: appareil de Golgi, t;: trophospongium.


ax
ax
G
er
ax
er
ax
er
G
t
ax
μ

nous décrivons ici, en plus ou moins grand nombre, sont présents dans le cérébroïde.

C'est au type V de la classification proposée par Dhainaut-Courtois (1968 b - 1970), que nous devons sûrement rattacher les types cellulaires que nous venons de décrire. On sait que cet auteur distingue 2 sous-types (Va et Vb), différents par la nature des grains que contient leur cytoplasme. Le sous-type Va étant caractérisé par des grains de 1.000 Å, le type Vb par des grains de 1.500 Å. Les deux types de grains sont de densité variable aux électrons. Nous n'excluons pas la possibilité que ces deux sous-types existent également chez G. convoluta, mais nous n'avons pas effectué le travail statistique qui permettrait de l'affirmer. Nous étudierons plus loin la possibilité d'apparenter à tel ou tel type de fibre examiné au niveau du neuropile, ce type cellulaire que pour l'instant nous considérons comme unique.

b - Les cellules du nucleus II

Les cellules constituant le nucleus II, lequel, nous le rappelons est entouré par les éléments d'allure photoréceptrice du nucleus I, ont une allure tout à fait particulière qui nous conduit à en faire une catégorie à part. Ces neurones nous sont toujours apparus comme monopolaires, et leur caractère essentiel réside dans la pauvreté du cytoplasme, souvent réduit à une mince couche, de 0,5 µ, ou moins de largeur, entourant le noyau (fig. 3I). Le noyau lui-même est remarquable par la grande densité des mottes de chromatine. Dans les plages cytoplasmiques les plus étendues on peut observer de nombreuses mitochondries, un ergastoplasme important et d'assez nombreuses vésicules spécialement abondantes au voisinage des corps de Golgi, eux-mêmes bien développés. Ces vésicules dont le contenu peut être d'une densité variable aux électrons, comportent une couronne périphérique claire, et leur diamètre moyen est de 1.000 Å. On retrouve dans les prolongements de ces cellules, des vésicules tout à fait identiques et il semble bien que le produit de

sécrétion qu'elles contiennent est ainsi véhiculé par les axones. Dans la partie proximale de ceux-ci on trouve également des corps de Golgi et des éléments du reticulum granulaire. De profondes invaginations du trophospongium sont à signaler au niveau des territoires cytoplasmiques les plus larges. En microscopie optique, la fuchsine-paraldéhyde colore le cytoplasme de ces cellules, au niveau vraisemblablement des vésicules que nous venons de décrire. Rappelons que les axones des cellules du nucleus II, paraissent, sur les préparations colorées à l'argent converger vers la partie médiane du cérébroïde où ils rencontrent les prolongements cellulaires issus du nucleus correspondant du côté opposé.

Il ne semble pas possible de ranger délibérément les cellules que nous venonsde décrire dans un des 6 types que Dhainaut-Courtois a déterminé chez les Nereidae. Cependant, cet auteur signale, en dehors des catégories qu'elle a définies, la présence, parmi les cellules des corpora pedunculata ainsi que dans le noyau ganglionnaire 18, de cellules dont : les dimensions, le rapport nucléoplasmique élevé et l'allure des grains de sécrétion sont voisins de ceux que nous rencontrons dans le nucleus II de G. convoluta.

c - Les cellules neurosécrétrices

Les recherches de neuroendocrinologie sont, sans aucun doute, à l'origine de la très grande majorité de nos connaissances actuelles sur le ganglion cérébroïde des Polychètes comme des autres Annélides.

Bien que nos préoccupations soient étrangères aux processus endocriniens, il ne nous paraît pas possible de passer sous silence un phénomène qui semble concerner une très forte proportion de la population neuronale du cérébroïde de G. convoluta, comme de toutes les Annélides Polychètes étudiées de ce point de vue jusqu'ici.

Les colorations à la fuchsine paraldéhyde ou à l'hématoxyline de Gomori permettent de mettre en évidence des cellules sécrétrices, dans la plupart des 17 nucleus que nous avons décrits plus haut. La présence de

fig. 32 - A, B, C et D coupes frontales du cérébroïde (coloration fuchsine-paraldéhyde) A et B x I60, C x320, D x I000

C et D coupes au niveau du complexe cérébro-hémal.

g.: gaine du cérébroïde, i.c.: cellules infra-cérébrales, ne: neuropile, s.: sinus sanguin, $N_3N'_3$: neurones géants,

E, F, G et H types de cellules neurosécrétrices du cérébroïde (coloration fuchsine-paraldéhyde) x I.000.

C I, C II, C V : types cellulaires I, II et V de Dhainaut-Courtois.

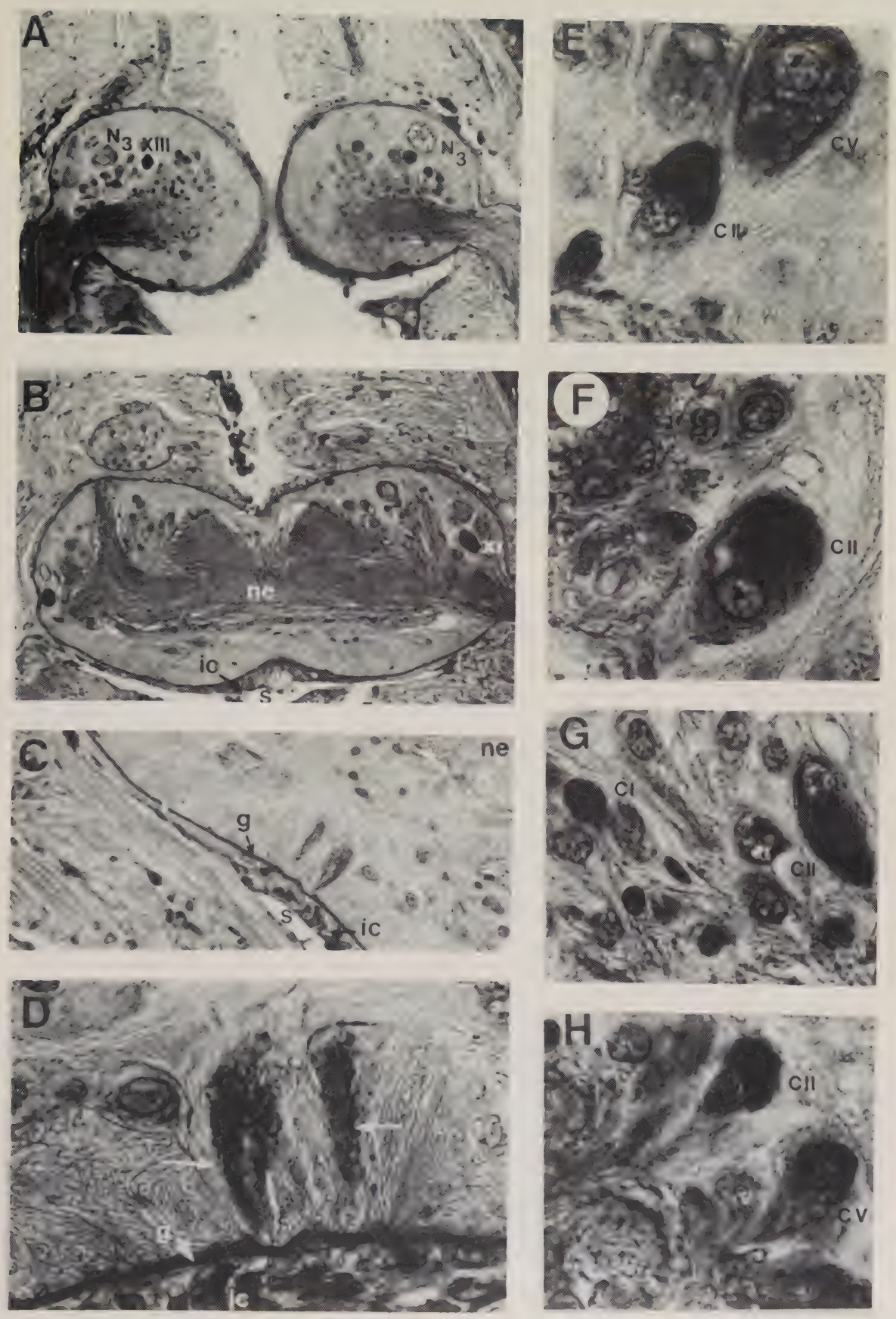
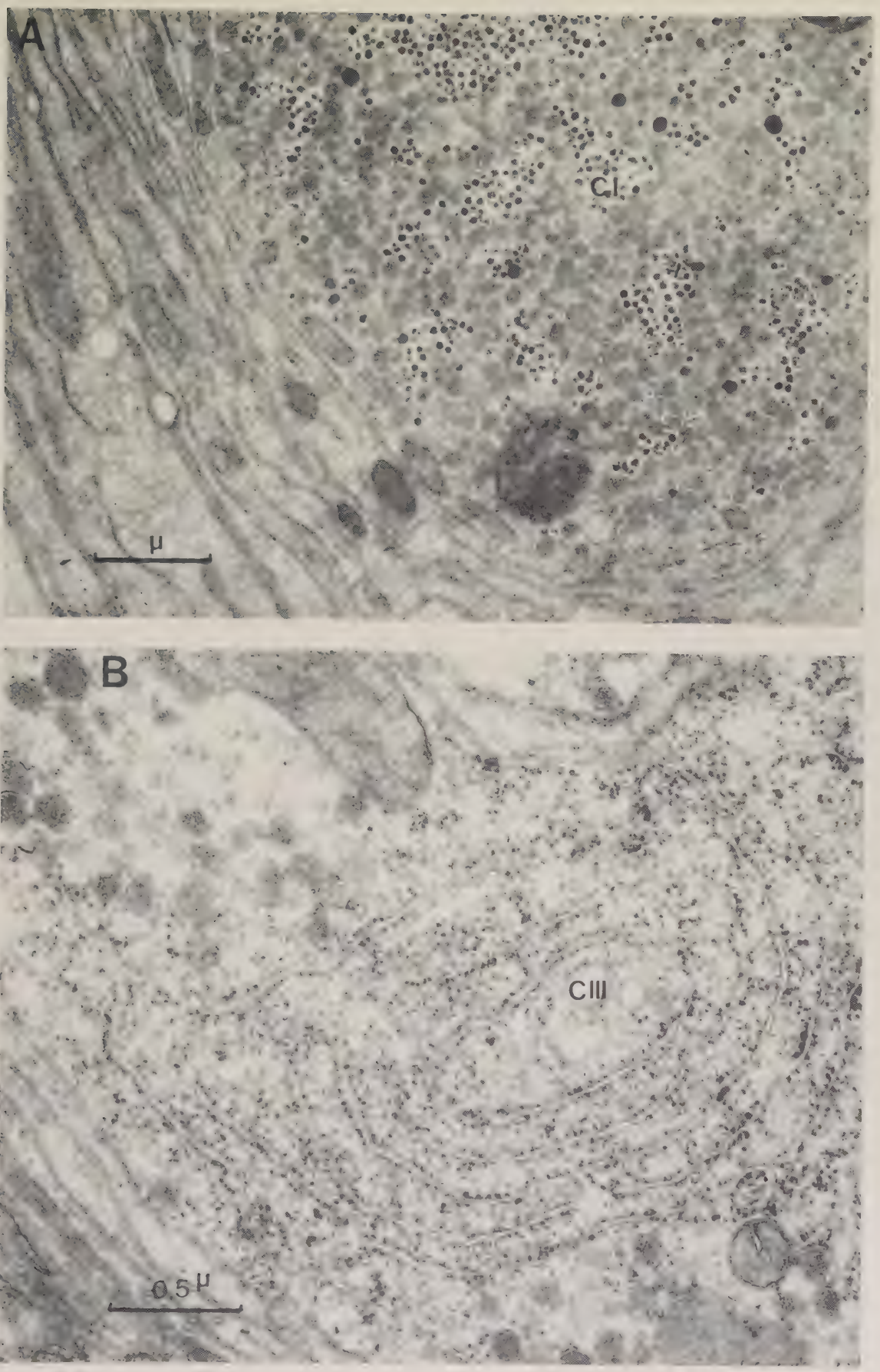

A
N3 XIII
N3
B
ne
ic
s
C
ne
g
s
ic
D
g
ic
E
CV
CIb
F
CII
G
CI
CII
H
CII
CV

fig. 33 - coupes au niveau de cellules de type neurosécrétoire

A : type I de Dhainaut-Courtois. x 19.000

B : type III de Dhainaut-Courtois. x 43.000


A
CI
μ
B
CIII
0.5μ

cellules de ce type ne fait en tous cas aucun doute pour les nucleus : III, VI, VIII, IX, XI, XIII, XIV, XV et XVI. (cf. fig. 32).

Il n'est évidemment pas possible sans une étude histochimique précise, tenant compte de l'état sexuel de l'animal, et associée à une étude ultrastructurale des mêmes éléments cellulaires parfaitement repérés, d'établir une classification précise des cellules neurosécrétrices. Notre étude succincte de ce phénomène nous permet tout au plus de tenter un rapprochement entre ce que nous avons observé, et ce que d'autres auteurs ont minutieusement décrits chez d'autres Polychètes. Comme nous l'avons déjà indiqué, c'est la classification proposée par Dhainaut-Courtois (1970) qui nous servira de terme de référence. Cet auteur distingue, sur la base des informations fournies par la microscopie optique et électronique, 6 grandes catégories cellulaires dans le ganglion cérébroïde des Nereidae. Les trois premières catégories concernent des types neurosécrétoires dont on peut penser qu'ils ne sont pas spécifiques des Nereidae ; nous tenterons donc de faire le rapprochement entre ce que nous avons pu observer chez G. convoluta et les 3 grands types proposés par Dhainaut-Courtois pour les Nereidae.

α - Type cellulaire I -

On peut considérer que les cellules très fortement colorées par la fuchsine paraldéhyde (fig. 32G)appartiennent au type I. C'est à ce même type qu'appartiendrait alors la cellule dont nous donnons une image fragmentaire en électronique (fig. 33 a) et qui est caractérisée par la présence de grains élémentaires moyennement denses aux électrons, d'un diamètre supérieur à 1200 Å , possédant généralement un étroit halo périphérique, conformément à la définition donnée par Dhainaut-Courtois. C'est fort probablement à une cellule de ce type qu'appartient la fibre, dont la fig.35B fournit une image prise au sein du neuropile.

Trois sous-catégories I_a, I_b et I_c sont distinguées par Dhainaut-Courtois ; nous nous abstiendrons de les rechercher chez G. convoluta à travers cette rapide étude.

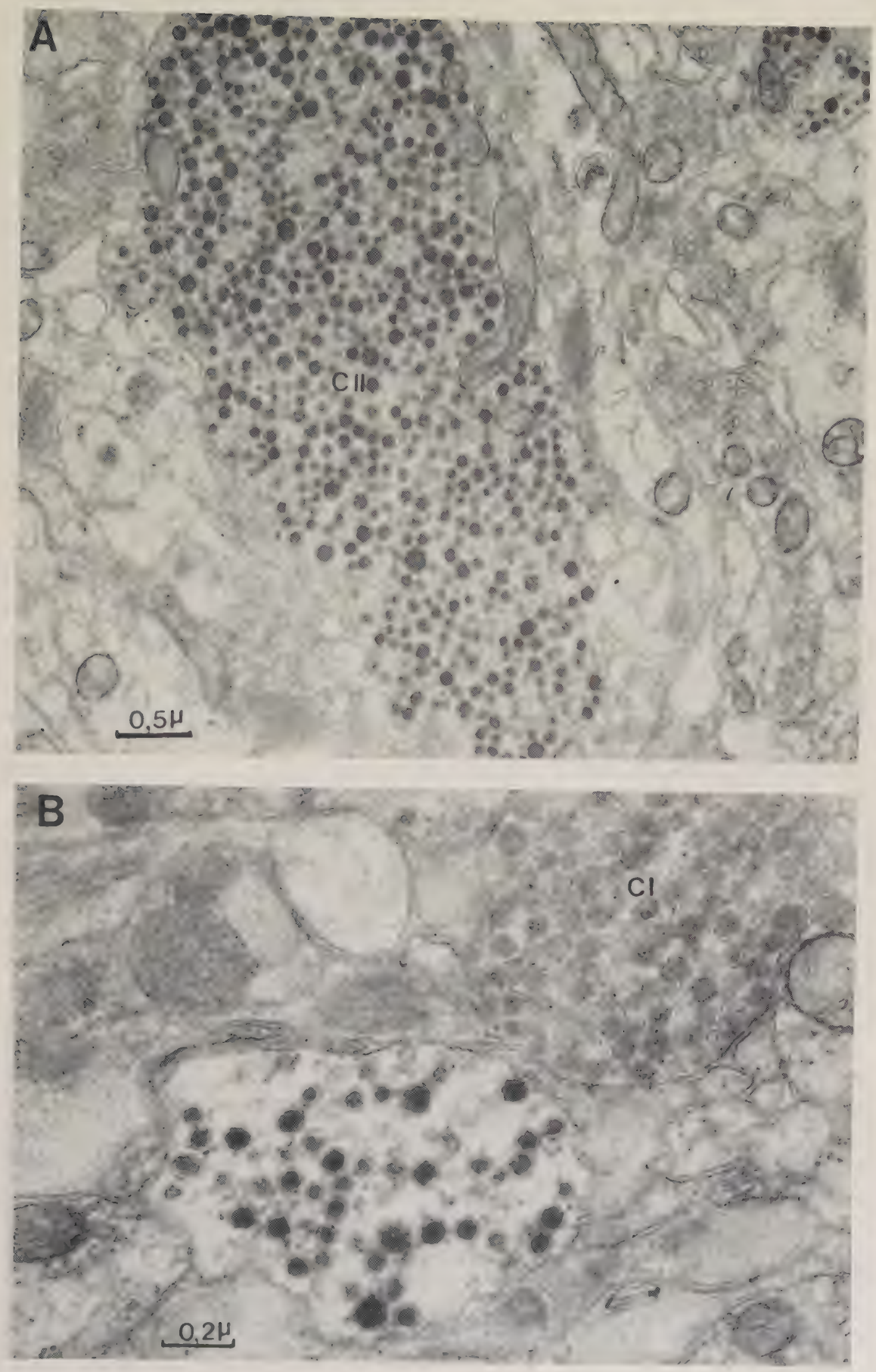
fig. 34 - coupe au niveau d'une cellule neurosécrétrice ,type II de Dhainaut-Courtois. x 10.000.

er.: ergastoplasme, G.: appareil de Golgi, n: névroglie, t.: trophospongium.

G
t
C II
G
n
er
n
μ

fig. 35 - A et B coupes au niveau de fibres de type neurosecrétoire au sein du neuropile du cérébroïde. A x25.000, B x 52.000

C I: type cellulaire I de Dhainaut-Courtois, C II type cellulaire II de Dhainaut-Courtois.


A
C II
0,5μ
B
C I
0,2μ

β - Type cellulaire II -

La présence de ce type cellulaire dans le cérébroïde de G. convoluta ne semble pas faire de doute, si nous examinons des images telles que celles de la fig. 34. La disposition périnucléaire de l'ergastoplasme et des corps de Golgi, et surtout l'abondance dans le cytoplasme de vésicules au contenu très dense aux électrons et d'un diamètre moyen de 1500 Å, nous paraît tout à fait caractéristique. C'est à ce même type cellulaire II que l'on doit probablement rattacher la section de fibre de la fig. 35A dans laquelle on retrouve des vésicules identiques. On observera sur cette même figure la présence, entre les grains de neurosécrétion, de très nombreuses petites vésicules claires de 300 Å de diamètre environ.

γ - Type cellulaire III -

Nous avons pu observer en microscopie électronique des cellules dont le pôle axonal est encombré par de grandes formations circulaires d'ergastoplasme (fig.33B). Les grains de sécrétion qu'on observe dans ces cellules sont de grandes dimensions : ils atteignent parfois 2000 Å ; ils sont relativement denses aux électrons et prennent souvent un aspect ovoïde. Ces cellules correspondraient aux neurones dont le pôle axonal apparaît comme très basophile en microscopie optique. Il est donc possible que des cellules de ce type correspondent au type III, décrit dans le noyau 18 des Nereidae, par Dhainaut-Courtois.

Bien que nous considérions qu'une étude en soi de la neurosécrétion reste à faire chez les Glyceridae, il semble probable que les grands types de cellules neurosécrétrices décrits chez les Nereidae, se retrouvent avec beaucoup de similitude chez les Glyceridae. Le problème demeurant entier, bien entendu, de savoir s'il s'agit de cellules fondamentalement différentes ou d'états physiologiques successifs d'une même cellule.

d - Le complexe cérébro-hémal.

La réalité d'un phénomène neuro-endocrinien ne peut être démontrée par la seule utilisation de méthodes histologiques, tant que n'a pu être visualisée la voie de transit du produit de neurosécrétion, des cellules nerveuses à l'appareil circulatoire.

Pour ce qui concerne les Annélides Polychètes, c'est Bobin et Durchon (1952) qui ont découvert chez un Nereidae : Perinereis cultrifera , une zone d'étroite relation entre la face ventrale du cérébroïde et le vaisseau dorsal, qui dans sa partie antérieure constitue un réseau infra-cérébral. Cette zone a été désignée par les auteurs précités sous le nom de complexe cérébro-vasculaire.

Dhainaut-Courtois (1964-1970) a étudié l'ensemble de ces structures, en microscopie optique à l'aide de colorations à la fuchsine paraldéhyde, ainsi qu'en microscopie électronique. Chez Nereis pelagica on distingue, en microscopie optique, dans la partie ventrale du cérébroïde, un cône intracérébral limité antérieurement et postérieurement par des invaginations médianes de la capsule, et dorsalement par la région du neuropile située sous la commissure optique. Dans cette région, s'accumule le matériel de sécrétion qui est acheminé vers la capsule du cérébroïde par des axones perpendiculaires à celle-ci. Des cellules "infracérébrales" sont accolées à la face ventrale de la capsule ; certaines sont fuchsinophiles. Le réseau vasculaire est localisé dans la région médio-ventrale sous-jacente au cône infra-cérébral.

Nous avons pu observer chez G. convoluta un dispositif de transit du même ordre, mais sensiblement différent dans son anatomie. La première différence vient du fait qu'au contraire de ce qu'on rencontre chez les Nereidae, les Glyceridae sont dépourvus d'appareil vasculaire. Les éléments sanguins circulent dans des lacunes qui sont de simples ramifications de la cavité coelomique. On ne rencontre donc pas de réseau vasculaire infracérébral, mais un sinus, ventral par rapport au cérébroïde, dans lequel ce dernier baigne.

Sur la fig.32C-D nous pouvons observer deux bouquets de fibres, très vigoureusement colorées par la fuchsine paraldéhyde, qui convergent vers 2 points situés dans la partie médio-ventrale du cérébroïde. L'examen de coupes sériées permet de s'assurer que ces fibres trouvent leur origine dans la région postéro-ventrale du cérébroïde. L'enchevêtrement de très nombreuses fibres nerveuses au sein du neuropile ne permet évidemment pas de rapporter telle fibre à telle cellule neurosécrétrice.

Nous n'avons pas observé d'invaginations de la capsule bordant un cône intracérébral comme chez N. pelagica ; les fibres chargées de neurosécrétat semblent cheminer à travers les cellules gliales sans autre différenciation.

A la face ventrale du cérébroïde se trouve une lame de tissu d'environ 15 µ d'épaisseur qui s'étend sur une large zone, au centre approximatif de laquelle, aboutissent les bouquets de fibres que nous venons de décrire. Ce tissu est constitué de cellules de petites dimensions dans le cytoplasme desquelles on observe fréquemment des inclusions fuchsinophiles.

C - CONCLUSION

Nous nous sommes efforcés, au cours de cette étude cytologique, de faire un inventaire aussi complet que possible des éléments cellulaires composant le cérébroïde de G. convoluta. Il nous semble, au stade où nous avons mené cette étude, que le bilan global peut se répartir en deux grands ordres d'observations. Les unes ont en effet permis de retrouver chez les Glyceridae, avec de légères différences morphologiques, des caractères décrits chez d'autres Polychètes. Un autre ensemble de faits semblent marquer l'originalité des Glyceridae.

Au premier groupe d'observations nous rattachons ce qui concerne la glie, les neurones ordinaires et neurosécrétoires. La totalité du tissu non nerveux à proprement parler, ne diffère pas profondément de ce qui a été observé ailleurs, qu'il s'agisse : de la capsule enveloppante, des inclusions denses et des filaments gliaux, des jonctions intracellulaires et des espaces

extracellulaires. Ce qui est sûrement à retenir, c'est que la fonction de la glie chez les Polychètes, et dans de nombreux autres phyla sans doute, est le siège de processus essentiels dans la neurobiologie des Invertébrés.

Nous aurons d'ailleurs l'occasion de revenir sur un aspect particulier de ce problème au chapitre IV, où nous traitons de la médiation cholinergique.

L'ensemble de la population neuronale que nous avons étudiée n'a pas révélé de faits très nouveaux. L'histologie des éléments neurosécréteurs semble confirmer ce qui a été vu ailleurs, notamment chez les Nereidae. La découverte d'un complexe neuro-hémal permet d'ajouter la famille des Glyceridae à celles des Nereidae et des Nephthydae, qui sont les seules à notre connaissance où un dispositif du même genre a jusqu'ici été décrit.

Le second groupe d'observations, qui marque l'originalité du cérébroïde des Glyceridae, concerne la régression des organes sensoriels prostomiaux. La réduction de la dimension des antennes, la disparition des formations oculaires, en sont les deux aspects principaux. En compensation, des dispositifs dont nous ignorons la signification exacte, sont bien développés. Deux d'entre eux marquent l'anatomie microscopique du ganglion cérébroïde. Le premier est représenté par ce curieux appareil sacculaire résultant peut-être de la migration, dans la profondeur du prostomium, du cérébroïde ; celui-ci ayant entrainé, au cours de l'évolution, une structure sécrétoire superficielle. La seconde formation originale est sans aucun doute celle que constitue le nucleus I. Avons-nous à faire ici à des cellules ayant conservé, malgré leur enfouissement dans l'organisme, une fonction photo-sensible ? Il est tentant de répondre par l'affirmative, en raison de l'absence d'yeux chez les Glyceridae. Là, comme dans le cas précédent, nous serions en présence d'une conséquence de la ligne évolutive particulière suivie par cette famille, et dont le résultat le plus remarquable, pour ce qui nous préoccupe, a été d'éloigner le cérébroïde de l'épiderme.

Nous verrons au chapitre V, que cette disposition, qui sépare plus nettement qu'il n'est habituel chez les Annélides, les deux formations d'origine ectodermique que sont l'épiderme et le système nerveux, présente un intérêt tout particulier dans les phénomènes régénératifs que nous avons mis en évidence.

-o-o-o-o-

CHAPITRE III

LA MEDIATION CHOLINERGIQUE

A - INTRODUCTION

Il est surprenant de constater d'une part, l'ancienneté de la découverte de la nature cholinergique de l'excitation chez les Annélides et d'autre part, la rareté des travaux, surtout biochimiques, concernant la médiation cholinergique dans cet embranchement.

C'est en effet dès 1914 que Gaskell signale que l'excitation du muscle de la Sangsue est de même nature que celle du muscle squelettique des Vertébrés. Quelques années plus tard Fuhner (1918) montre que l'acétylcholine (ACh), à une concentration inférieure à 10 µg/ml, produit une contraction du muscle pariétal longitudinal chez cette Hirudinée. Ces travaux sont à l'origine des techniques de dosage par essais biologiques que devaient développer Minz (1932), Chang et Gaddum (1933), Mc Intosh et Perry (1950), et Szerb (1961).

Les Hirudinées et les Oligochètes ont été l'objet d'assez nombreux travaux mettant en oeuvre des techniques électrophysiologiques et pharmacologiques. Gerschenfeld (1973) a fait remarquer que, bien qu'il soit très probable que les motoneurones des sangsues et des lombrics soient cholinergiques, on ne possède toujours pas d'évidence biochimique sur ce point.

Les travaux électrophysiologiques et pharmacologiques concernant la médiation cholinergique, ont été moins nombreux pour les Annélides Polychètes que pour les deux autres classes d'Annélides. Dès 1939 cependant, Wu signale que les muscles pariétaux de l'arénicole sont peu sensibles à l'ACh seule, mais que l'ésérine accroît grandement cette sensibilité qui est, par ailleurs, abolie par la nicotine. Chez un Sabellidae : Branchioma vesiculosum, Nicol (1952) observe que les contractions musculaires provoquées par l'ACh ne sont pas affectées par la d-tubocurarine , alors qu'elles sont diminuées par

l'atropine qui pourtant ne bloque pas les récepteurs cholinergiques de la sangsue et du lombric. Alvarez et coll. (1969) ont confirmé les observations de Nicol en travaillant sur un autre Sabellidae : Sabellastarte magnifica. Ils ont également signalé que l'ACh pouvait avoir sur les muscles de cet animal un effet complexe : les contractions pouvant être précédées ou suivies de relaxations du muscle, ce qui est explicable, selon ces auteurs, par la présence de fibres musculaires de différents types.

Une étude pharmacologique détaillée d'un Serpulidae : Serpula vermicularis et d'un Eunicidae : Lumbriconereis impatiens a été effectuée par Ger et coll. (1970). Il résulte de ces travaux que les muscles non-viscéraux de ces 2 Polychètes sont plus sensibles à des nicotino-mimétiques, comme la butyryl-et la propionylcholine, qu'à l'ACh ; cependant que des substances à effets muscariniques ont un effet plus faible que l'ACh, ou sont tout à fait inefficaces.

Dans le domaine biochimique nous ne disposons que des travaux de Bacq (1935 et 1937), et de ceux de Florey et Florey (1965), dont nous exposons plus loin les résultats.

B - TECHNIQUES UTILISEES

1° - TECHNIQUES BIOCHIMIQUES

a - Dosage de l'acétylcholine

L'acétylcholine (ACh) a été dosée par la technique d'essais biologiques utilisant le muscle dorsal ésériné de Sangsue, monté dans un microbain (Szerb 1961), comme préparation de référence.

Les échantillons ont été homogénéisés à l'aide d'un microhomogénéiseur en verre, dans : 0,1 ml, pour les cérébroïdes, et 0,5 ml, pour les chaînes nerveuses ventrales et le muscle, d'une solution physiologique contenant: 408 mM - NaCl, 5,6 mM - KCl, 3,2 mM - $NaHCO_3$, 1,2 mM - NaH_2PO_4, 1,2 mM - $MgCl_2$, 2,2 mM - $CaCl_2$, 5,5 mM - Glucose, 200 mM - saccharose, à laquelle on a additionné 5 % d'acide trichloracétique. Le poids des échantillons était de l'ordre de 0,15 mg pour les cérébroïdes, de 15 mg pour les chaînes nerveuses

b - Dosage de la choline-acétyltransférase

Pour les dosages de cette enzyme de synthèse de l'ACh nous avons utilisé la méthode proposée par Fonnum (1966), en l'adaptant au matériel considéré, selon les modalités suivantes :

- homogénéisation dans du tampon phosphate 10 mM à pH 7 auquel on a ajouté 0,5 % de Nonex.

- préincubation de 10 min. à 37°C d'un milieu contenant : 4 mM - acétate de sodium, 26 mM - NaF, 25,4 mM - $Na\ H_2PO_4$, 5,25 mM - $MgCl_2$, 300 mM - NaCl, 0,05 mM - CoA, 6,5 mM - ATP neutralisé, 0,04 mM - KBH_4, 0,4 mM - ouabaïne et poudre acétonique de foie de pigeon (Sigma), resuspendue dans 0,02 M de $NaHCO_3$, 14 mg/ échantillon avec acétate $^{14}C_1$-3,75 µCie par échantillon. Le pH est ajusté à 7. Les échantillons positifs contiennent 10 mM de choline, 0,1 ou 0,5 10^{-3} M de salicylate d'ésérine. Les blancs ne contiennent pas de choline ni d'ésérine, et on ajoute éventuellement de l'acétylcholinestérase. On incube les échantillons à doser, pendant 1 h à 37°C.

- extraction de l'acétylcholine synthétisée suivant le procédé décrit par Fonnum (1968, 1969) ; l'éthylbutylcétone (1 ml contenant 25 mg de tétraphénylborate de sodium) est ajouté aux échantillons qui sont agités vigoureusement pendant 1 minute, puis les phases sont séparées par centrifugation. La phase cétonique supérieure est recueillie et lavée avec 7 à 8 ml de tampon phosphate 10 mM, contenant 2 mg de tétraphénylborate Na/ échantillon. Après un ou deux lavages, 1 ml de la phase cétonique est mélangée à 2 ml d'acétonitrile et comptée au compteur à scintillation (Nuclear-Chicago Mark I) dans du toluène (10 ml) contenant 0,5 % de PPO et 0,02 % de POPOP.

c - Dosage des cholinestérases

Nous avons utilisé la technique d'Ellman et coll. (1961) en prenant comme substrat, soit l'acétylthiocholine, soit la butyrylthiocholine.

d - Identification de divers esters de la choline à partir de précurseurs radioactifs

Du glucose, de l'acétate de sodium et de la choline ^{14}C ont été injectés en solution dans 0,1 ml d'eau de mer filtrée, dans la cavité générale des vers répartis en 3 lots différents désignés : G, A et Ch.

Le lot G était composé de 6 animaux dont chacun a reçu 5 µCi de glucose ^{14}C (activité spécifique 48,6 mCi/mMol) ; ces animaux ont été sacrifiés au bout de 3 heures.

Le lot A, composé de 6 animaux auxquels on a injecté 5 µCi d'acétate de sodium ^{14}C (activité spécifique 45 mCi/mmol), a été sacrifié au bout de 4 heures.

Le lot Ch était composé de 3 animaux dont chacun a reçu 5 µCi de chlorure de choline ^{14}C (activité spécifique 61 mCi/mmol), et qui ont été sacrifiés 5 heures après l'injection du précurseur.

Les chaînes nerveuses ventrales grossièrement disséquées et des fragments de muscles, sont traités pendant 1 à 3 heures par l'acide trichloracétique en solution dans l'eau de mer 5:100 (p/v). On a utilisé 1 ml de cette solution pour les échantillons de chaîne nerveuse (désignés par 2) dont le poids moyen était de l'ordre de 50 mg, et 3 ml de la même solution pour les échantillons musculaires (désignés par 1) dont le poids moyen était de l'ordre de 400 mg.

Après homogénéisation au Potter-Elvehjem (verre-Téflon) on a recueilli 0,8 ml des échantillons G 2, A 2, Ch 2, et 1,6 ml des échantillons G 1 et A 1 et Ch 1.

Dans chaque échantillon on a introduit un standard interne constitué par 0,02 µCi d'^{3}H.ACh.

Après 3 lavages à l'éther qui amènent le pH des échantillons au voisinage de 4, 5, on ajoute à chacun 5 ml de tampon phosphate 10 mM à pH 7,3. Puis on traite les échantillons par le tétra-phényl-borate en solution dans

l'éthyl-butyl-cétone (20 mg pour 2 ml). Après agitation et centrifugation pour séparer la phase cétonique, on recueille 1,8 ml de celle-ci qu'on traite par 0,6 ml d'HCl IN. Après une nouvelle agitation on élimine la phase cétonique. Pour les échantillons A 1, A 2, G 1 et G 2, 0,2 ml de la phase aqueuse sont mis dans une fiole de comptage, désséchés sous vide en présence de P_2O_5, repris par 0,1 ml d'éthanol et mis à compter au compteur à scintillation après addition du liquide de comptage décrit ci-dessus.

Les autres échantillons ont été lavés avec 4 ml d'éthyl-butyl-cétone puis, après évaporation repris par 25 µl de méthanol auquel on a ajouté 5 mM de chlorures de : butyrylcholine, propionylcholine, acétylcholine et choline comme entraîneurs. On a déposé sur des plaques de chromatographie (TLC ; D.C. Fertig platten cellulose Merck) 10 µl de cette solution que l'on a mise à migrer pendant 5 heures en se servant comme solvant d'élution du mélange : butanol, éthanol, acide acétique et eau (8;2;1;3). Les taches ont été révélées en pulvérisant le réactif suivant : acide chloroplatinique 5 % (p/v) ; Iml ; iodure de potassium à 4,5 % (p/v) dans l'éthanol à 50 % : 20 ml ; éthanol 50 % : 20 ml. Les taches de butyrylcholine,de propionylcholine, d'acétylcholine et de choline ont été grattées et décolorées dans 0,1ml de thiosulfate de sodium 5 % (p/v) dans le mélange éthanol - eau (1/1) ; on a ajouté 1 ml d'éthanol-ammoniaque 0,1 M avant de mettre à compter au compteur à scintillation en présence du milieu de comptage en scintillation liquide. Une chromatographie de contrôle a été effectuée sur les 15 µl des métabolites en solution dans le méthanol restant, après hydrolyse par 0,1 ml de soude 0.1 N et chauffage pendant 5 min. au bain marie.

2° Techniques histochimiques

Seules les cholinestérases ont été étudiées par des techniques histochimiques; aucune méthode de ce type ne permettant malheureusement la mise en évidence de l'ACh,et les techniques histochimiques concernant la cholinacétylase manquant trop de spécificité.

Pour la mise en évidence de l'acétyl-cholinestérase nous avons utilisé la technique de Crevier et Bellanger à l'acétyl-disulfure, et diverses variantes de la technique de Koelle à l'acétyl-thiocholine. Seule cette dernière méthode nous a donné des résultats satisfaisants sur matériel fixé. Nous avons, après de nombreux essais, opté pour l'une des variantes proposée par Tsuji (1974) que nous avons adaptée à notre matériel. Les pièces sont fixées 30 minutes dans du formol neutralisé à 10 % dans l'eau de mer synthétique ou dans du tampon acétate 0,4 M à pH 6. Après un lavage de 2 à 3 heures au froid, dans l'eau de mer, ou dans du tampon acétate 0,6 M, des coupes de 20 µ environ sont faites au cryostat et recueillies dans du tampon 0,6 M à pH 6. Un bain de préincubation de 15 à 30 minutes est effectué dans un mélange comprenant 9 ml de tampon acétate 0,4 M à pH 6, pour 1 ml de la solution de glycine et de SO_4Cu habituelle. On incube de 15 à 30 minutes dans le mélange précédant auquel on ajoute préalablement 30 mg d'acétyl-thiocholine (Sigma) pour 10 ml. de solution. Après un lavage de 15 minutes dans le tampon acétate 0,6 M à pH 6, les coupes sont passées une minute environ dans une solution diluée de $(NH_4)_2S$, puis rincées dans H_2O et montées au "Water Mounting".

C - RESULTATS DE L'ETUDE BIOCHIMIQUE

Après avoir vérifié la présence d'ACh dans le système nerveux de G. convoluta, nous nous sommes attachés à connaître les précurseurs utilisés pour la synthèse des 3 esters de la choline les plus courants. Après avoir constaté que l'acétylcholine était la substance synthétisée de façon nettement préférentielle, nous avons dosé cette substance médiatrice ainsi que les enzymes intervenant dans sa synthèse et sa dégradation.

1° - Synthèse de divers esters de la choline à partir de différents précurseurs radioactifs -

A l'aide de la méthode radiochimique dont les détails ont été fournis ci-dessus (cf Techniques biochimiques § d), nous avons, d'une part : recherché la voie de synthèse préférentielle de l'ACh à partir

d'acétate, de glucose et de choline ; et d'autre part tenté de savoir si à partir de choline, d'autres esters que l'ACh pouvaient être synthétisés. Le tableau ci-dessous résume le résultat de nos investigations. Les quantités de butyryl, de propionyl et d'acétylcholine synthétisés sont exprimées en d.p.m./g/h.

Précurseur utilisé	Butyrylcholine		Propionylcholine		Acétylcholine	
	Muscle innervé	Tissu nerveux	Muscle innervé	Tissu nerveux	Muscle innervé	Tissu nerveux
(^{3}H) Acétate de Na	-	-	-	-	7.610	17.534
(^{3}H) Glucose	-	-	-	-	7.831	108.415
(^{3}H) Choline	2.059	3.000	3.446	5.088	124.996	220.089

A l'examen de ces résultats nous pouvons conclure que l'acétate est relativement peu utilisé pour la synthèse de l'ACh ; au contraire, le marquage de la moitié acétyl du médiateur est très efficacement obtenu à partir de glucose. Pour le tissu nerveux et compte tenu de l'activité spécifique du glucose et de la choline utilisés comme précurseurs, l'ACh synthétisée est marquée de façon presque équivalente sur chacune de ses deux moitiés.

Par ailleurs une faible synthèse de butyryl et de propionylcholine est obtenue à partir de choline marquée, mais dans une proportion 40 fois plus faible pour ces 2 esters que pour l'ACh.

La figure 36 permet d'apprécier plus aisément l'importance relative de chacune des substances synthétisées à partir des divers précurseurs utilisés.

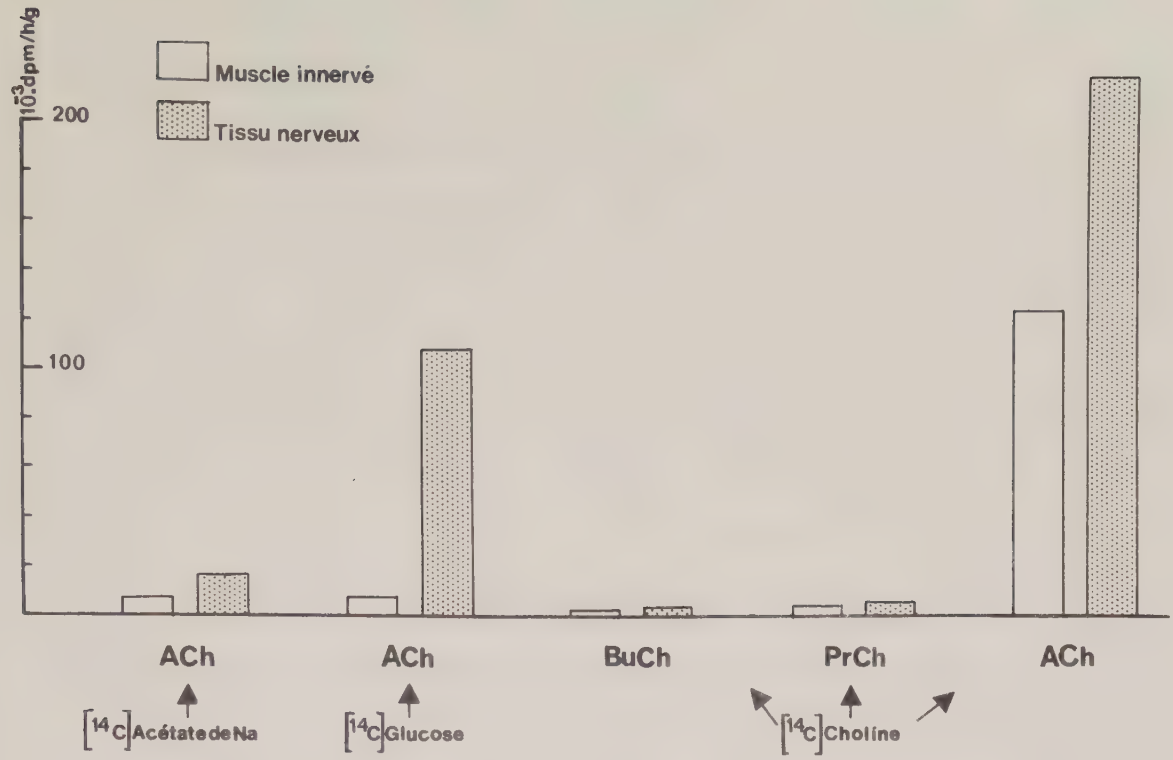


fig. 36 - Synthèse de divers esters de la choline à partir de précurseurs marqués.

2° - Taux d'acétylcholine endogène

Par la méthode d'essais biologiques rappelée plus haut nous avons procédé à plusieurs dosages sur : les ganglions cérébroïdes, la chaîne nerveuse ventrale et des fragments de muscles pariétaux innervés. Les résultats suivants ont été obtenus ; ils sont exprimés en p.moles/mg de tissu (le nombre de dosages est indiqué entre parenthèses) :

Ganglion cérébroïde	1.033 ± 383	(3)
Chaîne nerveuse ventrale	50	(1)
Muscle innervé	4,5 ± 1,5	(2)

Pour ce qui concerne les ganglions cérébroïdes, nous nous sommes contentés d'estimer leur poids à partir du volume moyen de cet organe (0,03 mg). Les trois dosages effectués sont affectés d'une erreur standard inférieure à 40 %, ce qui dans ces conditions paraît très satisfaisant. Pour la chaîne nerveuse ventrale nous n'avons retenu que la valeur fournie par l'unique dosage effectué sur le tissu nerveux parfaitement disséqué. Des dosages effectués sur des chaînes nerveuses grossièrement isolées nous avaient fournis une valeur moyenne de 10 p.moles $\pm$ 5. Il semble très raisonnable de considérer que dans ces conditions, le tissu nerveux proprement dit ne représente que le 1/5ème du poids total de l'échantillon qui comportait de plus : les gaines, et une fraction de la musculature et de l'épiderme environnants.

Les 2 dosages de fragments musculaires comportant leur innervation propre nous ont fourni des chiffres assez voisins, et suffisants pour nous assurer de la présence du médiateur qui pourrait éventuellement être impliqué dans l'innervation musculaire de l'annélide étudiée.

3° Taux de choline-acétyl-transférase

Sur les mêmes organes que pour l'ACh nous avons dosé l'enzyme intervenant au stade ultime de la synthèse du médiateur. Les résultats, exprimés en µmol d'ACh synthétisée, à 37°, par heure et par gramme de tissu frais, sont les suivants (le nombre de dosages est indiqué entre parenthèses) :

Ganglion cérébroïde 36 ± 13 (3)

Chaîne nerveuse ventrale $11 \pm 0,2$ (2)

Muscle innervé $1,5 \pm 0,2$ (2)

4° Taux d'acétyl-cholinestérase

Deux dosages des cholinestérases ont été effectués en utilisant l'acétylthiocholine comme substrat. Les moyennes des résultats obtenus sur 3 dosages, sont les suivantes (exprimées en m.moles/h/g d'acétylthiocholine hydrolisée).

fig. 37 - A, B et C : Coupes de fibres nerveuses appartenant au neuropile du ganglion cérébroïde, et contenant une population de vésicules claires de 500 Å de diamètre.
Les ↗ indiquent des zones actives

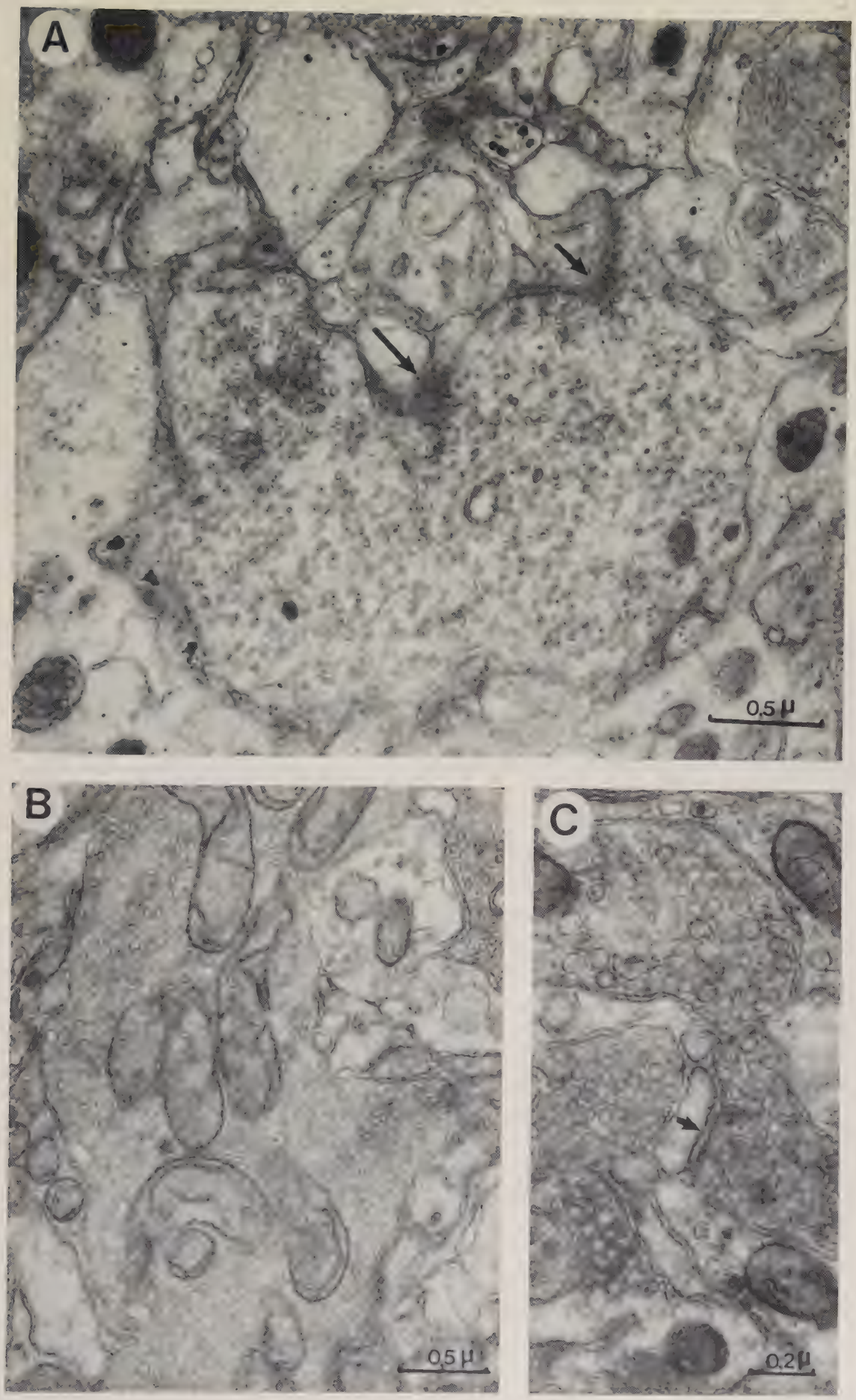
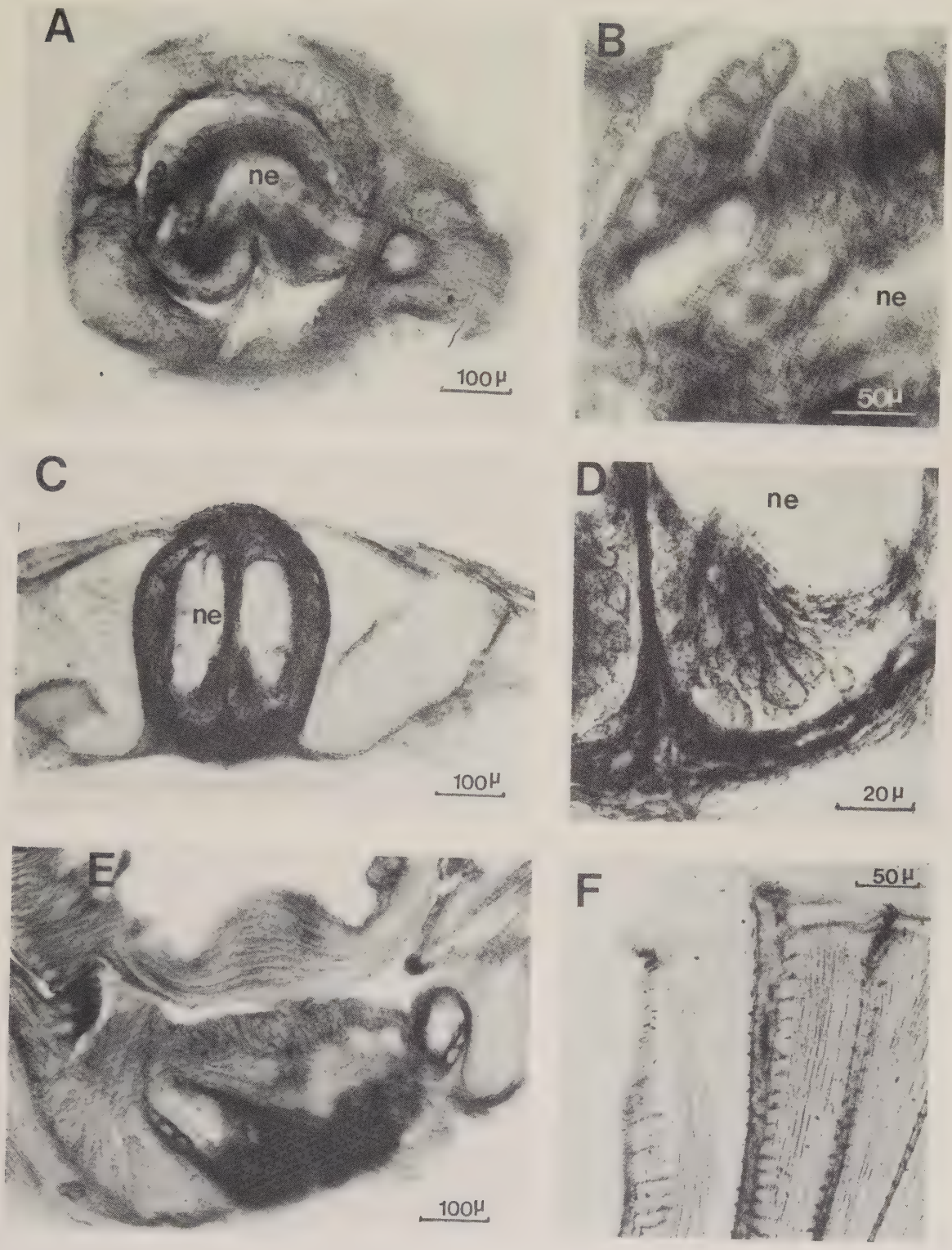

A
0.5 μ
B
0.5 μ
C
0.2 μ

fig. 38 - Réaction histochimique de Koelle (variante Tsuji) pour la mise en évidence des cholinestérases.
Microscopie optique.
A et B : ganglion cérébroïde
C et D : chaîne nerveuse ventrale
E : ganglion sous-oesophagien
F: musculature de la trompe.


A
ne
100µ
B
ne
50µ
C
ne
100µ
D
ne
20µ
E
100µ
F
50µ

Ganglion cérébroïde : 4,7 ± 1,3

Chaîne nerveuse ventrale : 4,3 ± 0,4

Muscle innervé : 1,1 ± 0,1

Nous avons vérifié que la butyryl-thiocholine était aussi très efficacement hydrolysée par les extraits de tissu de G. convoluta, ce qui suggère la présence dans ce matériel de cholinestérases non-spécifiques.

D - RESULTATS DE L'ETUDE MORPHOLOGIQUE ET HISTOCHIMIQUE

1° - ULTRASTRUCTURE DES FIBRES NERVEUSES

En microscopie électronique nous avons observé, au niveau du neuropile, du ganglion cérébroïde et de la chaîne nerveuse ventrale, des fibres riches en vésicules claires d'un diamètre moyen de 500 Å. Quelques vésicules de plus grand diamètre (800 à 900 Å) sont, comme il est habituel de le constater, présentes dans ces formations. En différents points, (fig. 37 A et C) des accumulations de vésicules, une relative densification des membranes et un accroissement de l'espace extra-cellulaire évoquent des zones synaptiques.

2° - HISTOCHIMIE DES CHOLINESTERASES

La réaction de Koelle dans la variante proposée par Tsuji (1974) que nous avons utilisée donne un précipité intense, de couleur brun noir, au niveau des membranes neuroniques, des travées gliales et des gaines, aussi bien dans le ganglion cérébroïde (fig. 38 A et B) et le ganglion sous-oesophagien (fig. 38 E) que dans la chaîne nerveuse ventrale (fig. 38 C et D). Curieusement le neuropile pourtant riche en synapses ne présente aucune réactivité. De même l'axoplasme des axones géants, faciles à localiser dans la chaîne nerveuse ventrale, demeure exempt de coloration. Au niveau de la musculature, un fin précipité peut être observé sans que l'allure des localisations permette de reconnaître des plaques motrices. La musculature de la trompe (fig. 38 F) nous a paru spécialement appropriée pour l'observation de ce type de réaction.

E - DISCUSSION -

Les critères permettant de conclure au rôle médiateur d'une substance au niveau d'une synapse chimique, reconnue comme telle physiologiquement

et morphologiquement, ont été définis par Gerschenfeld (1966). Nous souscrivons entièrement à ces exigences, et sommes par conséquent bien convaincus, que les informations rassemblées sur le tissu nerveux de G. convoluta sont encore très insuffisantes pour nous permettre de conclure à la réalité d'une médiation cholinergique au niveau de certaines synapses du système nerveux central de cette annélide. Le fait que nous ayons pu prouver la présence d'acétylcholine, de son enzyme de synthèse et de celle intervenant dans sa dégradation au niveau du système nerveux central, fournit une simple présomption quant à la réalité d'une médiation de type cholinergique. L'observation de vésicules du même type que celles communément rencontrées dans des terminaisons de type cholinergique bien établi, ainsi que la présence de cholinestérases, au niveau où nous avons pu les mettre en évidence histochimiquement, restent des arguments insuffisants pour une démonstration du genre de celle que nous avons abordée.

Il nous paraît cependant utile d'effectuer à ce stade de notre travail, une comparaison quantitative avec d'autres matériels pour lesquels les présomptions d'une médiation cholinergiquepeuvent être mieux fondées, ainsi que de faire une rapide revue des informations déjà publiées sur ce sujet, concernant divers représentants de l'embranchement des Annélides.

Les données quantitatives concernant les Annélides en général, sont rares pour ce qui est de l'acétylcholine et des enzymes intervenant dans le métabolisme de cette substance.

Bacq (1935) indique, à partir de dosages effectués avec le rectus abdominis de grenouille, les chiffres suivants pour les deux Polychètes étudiées (en équivalent de chlorure d'ACh) :

Halla parthenopeia 0,8 µg/g

Spirographis spallanzanii 0,5 à 0,7 µg/g.

Ces dosages ont été effectués sur des animaux entiers et non sur du matériel nerveux isolé ; ces chiffres peuvent donc à la rigueur être comparés

à ceux que nous fournissons pour le muscle par exemple, lequel représente la plus grande proportion du poids total du corps. Nous constatons alors que nous avons des valeurs très voisines de celles trouvées par Bacq. (0,81 µg/g).

Les dosages dont font état Florey et Florey (1965) concernent l'Arenicolidae : Abarinicola pacifica. Ces mesures ont, semble-t-il, été effectuées sur la chaîne nerveuse ventrale, et la préparation de référence choisie pour les dosages par essais biologiques était dans ce cas le ventricule d'un lamellibranche : Protothaca thaca. Les auteurs donnent les chiffres suivants (en équivalent de chlorure d'ACh) : 1,9 , 2,1 et 2,3 µg/g, ce qui représente des quantités voisines de celles que nous avons trouvées pour les chaînes nerveuses ventrales de G. convoluta, auxquelles une imparfaite dissection avait laissé associée une certaine quantité de muscle (1,8 µg/g).

Pour ce qui est de l'AChE, Bacq (1935) indique seulement que le pied (?) d'Aphrodite aculeata et les muscles d'Arenicola marina sont très riches (++++ (?) en cette enzyme. Cependant que Florey et Florey (1965) donnent comme valeur : 1,1 , 1,3 et 1,7 mg d'ACh hydrolysés par 100 mg de tissu frais et par heure, pour le muscle dorsal d'Abarenicola pacifica. Ceci correspond à une activité environ dix fois inférieure à celle que nous avons trouvée chez G. convoluta, mais les auteurs ont utilisé une technique différente de la notre et sans aucun doute moins précise.

Nous n'avons pas trouvé dans la littérature d'autres données quantitatives concernant les Annélides Polychètes, ce qui montre combien le sujet a été peu étudié de ce point de vue. Pour mieux situer la richesse du tissu nerveux de G. convoluta par rapport à divers matériels nous pouvons dresser le tableau suivant :

	ACh n.moles/g	AChE m.moles/h/g	ChAc µ.moles/h/g
G. convoluta (cérébroïde)	1.033 ± 383	4,7 ± 1,3	36 ± 13
Torpedo marmorata (1) (organe électrique)	928 ± 89	18	2,5
Octopus vulgaris (2) (lobes optiques)	3050	84	45,6
Blatte (3) (cerveau)	980 ± 30	0,9 ± 0,1	
Rat (4)			
- Cortex	12 à 24	0,02 à 0,1	1,2 à 6
- Ganglion cervical supérieur	99 à 242	0,36 à 1,08	9 à 10,8

(1) Zimmermann et Whittaker (1974)

(2) Israel et Manaranche (non publié)

(3) Colhoun (1959)

(4) Hebb (1953)

A la lecture de ces chiffres nous constatons que le cérébroïde de G. convoluta est d'une richesse en acétylcholine tout à fait comparable à celui des insectes, et à l'organe électrique de la Torpille. Il est seulement trois fois moins riche que le lobe optique de la pieuvre, qui est le matériel cholinergique le plus riche que nous connaissions. Ces chiffres sont évidemment d'un tout autre ordre de grandeur que ceux qu'on a coutume de trouver dans le système nerveux central des Vertébrés supérieurs et notamment des Mammifères.

En dehors de ces données quantitatives, l'information la plus intéressante que nous avons pu apporter sur cette question de la médiation cholinergique, nous semble être la localisation gliale des cholinestérases. Nous n'avons pu, avec il est vrai les seuls moyens de la microscopie optique, mettre en

évidence d'AChE, ni dans les corps cellulaires ni, fait plus étrange peut-être, dans le neuropile du cérébroïde comme dans celui de la chaîne nerveuse ventrale.

La richesse de la glie en cholinestérases est bien connue chez divers Invertébrés, notamment chez les Insectes. Pour ce qui concerne les Annélides, si nous n'avons trouvé aucune référence d'un travail concernant les Polychètes, par contre les Oligochètes et les Hirudinés ont fait l'objet de quelques publications. Vigh Teichmann et Goslar (1968) ont signalé une forte activité cholinestérasique dans les cellules gliales et dans le neuropile d'Eisenia foetida. Teravainen (1969) a uniquement localisé l'enzyme dans la glie de la chaîne nerveuse ventrale de Lumbricus terrestris. Comme chez G. convoluta le neuropile ne présente aucune réaction. Cet auteur, en microscopie électronique observe seulement une faible réaction au niveau de l'ergastoplasme, de la membrane nucléaire et des corps lamellaires de quelques grands neurones médians. Toujours chez le lombric, Silver A. (1974) colore par la méthode de Koelle (modification de Lewis) la bordure de la chaîne nerveuse ventrale. Les corps cellulaires à ce niveau, de même que dans le ganglion oesophagien, ne réagissent pas du tout. Le même auteur parvient par les mêmes méthodes à mettre en évidence une activité cholinestérasique chez Hirudo au niveau : du muscle de la ventouse, de petites cellules bipolaires disposées en réseau dans les muscles, de même que dans le nerf de Faivre au niveau de la chaîne nerveuse ventrale. Les corps cellulaires, aussi bien dans les ganglions segmentaires que dans le ganglion oesophagien, ne réagissent pas. Le neuropile ganglionnaire présente une réaction positive, de même que l'anneau nerveux stomatogastrique. Là aussi les corps cellulaires ne se colorent pas. L'auteur en conclut que la coloration dans le neuropile et les fibres n'est pas dûe aux fibres neuronales mais à l'enzyme associée aux seules cellules gliales.

Cette localisation de l'enzyme, spécialement au niveau de la glie pose évidemment un difficile et important problème. Notons d'ailleurs que cette situation n'est pas particulière aux Invertébrés, et que chez les Vertébrés un assez grand nombre d'exemples de localisations de ce type ont été

décrites. Citons la forte réaction del'AChE dans l'astroglie de l'hypothalamus et de l'hippocampe du rat (Abrahams et Edery 1964), la glie du nerf optique du pigeon (Hebb et coll. 1953), dans celle de l'area postrema du mouton (Palmer et Ellerker 1961), et enfin dans les cellules satellites du ganglion parasympathique de l'intestin du rat (Cauna et coll. (1961). Dans tous ces cas le rôle de l'AChE dans cette situation demeure inexpliqué.

Pour ce qui concerne les Invertébrés il est évident qu'une meilleure connaissance du fonctionnement de la synapse cholinergique est indispenaable. En outre on ne peut évidemment exclure le fait que la ChE gliale ne soit en rien impliquée dans le processus de la transmission synaptique.

F - CONCLUSION -

L'ensemble des travaux jusqu'ici consacrés au système nerveux des Annélides permet de conclure à la réalité d'une médiation de type cholinergique au moins chez certains représentants de cet embranchement, comme la sangsue, pour ce qui concerne la musculature non-viscérale.

Il est possible que ce type de transmission chimique de l'influx nerveux soit généralisable à l'ensemble de l'embranchement ; beaucoup d'indices sont déjà en faveur de cette hypothèse et aucune preuve expérimentale n'est venue jusqu'ici la contredire. Il n'en demeure pas moins qu'une masse beaucoup plus considérable de travaux est encore nécessaire pour asseoir définitivement cette opinion.

Des éléments pharmacologiques et physiologiques dont nous disposons, il semble que différents types de récepteurs cholinergiques puissent se rencontrer chez les Polychètes. Ces récepteurs seraient plutôt de type muscarinique chez les Sabellidae (Nicol 1952 et Alvarez et coll. 1969), alors qu'ils seraient de type nicotinique chez les Serpulidae et les Eunicidae (Ger et coll. 1970).

Comme nous l'avons signalé dans l'introduction de ce chapitre les recherches biochimiques dans le domaine qui nous préoccupe ici sont très rares.

Les travaux de Bacq (1935-1936),et ceux de Florey et Florey (1965), ainsi que ceux dont nous venons d'exposer les résultats, sont les seuls qui ont été jusqu'ici réalisés. Ils permettent de conclure à la présence de l'ACh et à celle de ses enzymes de synthèse et de dégradation dans le système nerveux central, et sans doute au niveau des jonctions neuro-musculaires de 4 espèces de Polychètes.

Pour ce qui concerne l'espèce que nous avons étudiée nous devons retenir que l'ACh, que nous avons mis croyons-nous clairement en évidence, emprunte pour la synthèse de sa moitié acétyl la voie du pyruvate comme dans le système nerveux central des Vertébrés, et moins celle de l'acétate comme Israël et Tůcek (1974) l'ont montré dans l'organe électrique de la Torpille, et Dreyfus P. (1975) au niveau de la jonction neuro-musculaire des Mammifères.

La localisation gliale des cholinestérases dont nous apportons un nouvel exemple est un fait qui demeurera inexpliqué, aussi longtemps que la physiologie de la glie des Invertébrés sera aussi mal connue.

CHAPITRE IV

LA MEDIATION ADRENERGIQUE

A - INTRODUCTION

La présence d'amines biogènes chez les Annélides est connue depuis longtemps puisque c'est en 1903 que Poll et Sommer ont décrit, avec les techniques de l'époque, des cellules ganglionnaires chez la sangsue, qu'ils qualifiaient alors de "phéochromes" et assimilaient à celles de la médullo-surrénale des Mammifères. Biedl (1912) et Gaskell (1914) avançaient l'idée que ces cellules ganglionnaires pouvaient contenir de l'adrénaline. Vialli (1934) contestait cette hypothèse en faisant observer que la réaction chromaffine des cellules de sangsue ressemblait plutôt à celle des cellules entérochromaffines, qui ne contiennent pas d'adrénaline et dont on sait aujourd'hui qu'elles sont riches en sérotonine.

La technique d'histofluorescence de Falck et coll. (1962), marque une étape essentielle dans la détection histochimique des amines biogènes. Depuis sa publication, un assez grand nombre de travaux ont été effectués sur divers représentants des 3 classes de l'embranchement des Annélides.

Les travaux les plus nombreux concernent les Hirudinées. Nous devons citer ceux de Myhrberg (1965), de Kerkut et coll. (1967), de Kuzmina (1968), de Ehinger et coll. (1968), de Rude et coll. (1969), de Bianchi (1969), de Marsden et coll. (1969) et enfin de Coggeshall (1972).

Les Oligochètes ont été l'objet d'un nombre moindre de publications ; retenons celle de Rude (1966), de Myhrberg (1967), de Bianchi (1967), et de Kerkut et coll. (1967). En ce qui concerne les Polychètes nous ne pouvons citer que: celle de M.E. Clark (1966), laquelle a mis en évidence une fluorescence verte et une fluorescence jaune dans le système nerveux central et périphérique des Nephtydiens. Chez les Néréidiens, Warembourg et Dhainaut-Courtois (1969) et Dhainaut-Courtois (1972), ont observé une fluorescence jaune dans le

système nerveux central, fluorescence que ces auteurs estiment due à la bufoténine, qu'ils ont par ailleurs mise en évidence par des techniques biochimiques. Une légère fluorescence verte observée également, conduit ces mêmes auteurs à admettre la présence possible de quelques rares neurones élaborant des catécholamines. Nous avons enfin, en collaboration avec L'Hermite (1973), étudié la présence et le métabolisme des amines biogènes chez G. convoluta.

B - TECHNIQUES UTILISEES

1°- TECHNIQUES D'HISTOFLUORESCENCE DE FALK ET COLL.

Les prostomiums ou les fragments de régions moyennes du corps sont rapidement congelés, après prélèvement, dans l'isopentane refroidi par l'azote liquide au voisinage de son point de fusion. Après stockage éventuel dans l'azote liquide, les échantillons sont lyophilisés dans les conditions et à l'aide du matériel décrits par L'Hermite (1969). Après lyophilisation les échantillons sont exposés durant 90 min., à une température de 80°, aux vapeurs de paraformaldéhyde préalablement réhydraté au contact d'un mélange acide sulfurique/eau (25/75). Après inclusion sous vide dans de la paraffine (42-44°), des coupes d'une épaisseur de 7 µ,5 sont réalisées au microtome, en chambre froide, puis montées entre lame et lamelle dans une goutte d'"Entelan" (Merck). Les préparations sont examinées à l'aide d'un microscope à fluorescence Reichert muni d'un filtre d'excitation BG 12/6 mm, et des filtres d'arrêt GG 9/1 mm et OG 1/1,5 mm.

Des témoins sont obtenus, soit en omettant de traiter les pièces par les vapeursde paraformaldéhyde, soit en traitant les animaux 24 h à l'avance par de la réserpine(Serpasil, Ciba) en injection dans la cavité coelomique à la dose de 0,6 mg/g. Une indécision sur la quantité injectée demeure : les animaux rejetant souvent une partie du liquide injecté par de violentes contractions du corps.

2°- TECHNIQUES ULTRASTRUCTURALES

Les échantillons sur lesquels des vésicules à grain dense ont été observées ont généralement été fixés au glutaraldéhyde 6,25 % dans du tampon cacodylate 0,4 M pendant 2 à 3 h et post-fixés à l'acide osmique 2 % dans le même tampon. Les inclusions ont toujours été faites dans l'araldite.

Nous avons également procédé à une expérience d'autoradiographie dont les résultats ont malheureusement été insuffisants pour être exposés ici. Nous pensons néanmoins utile de rappeler brièvement le protocole suivi.

Nous avons injecté à des lots de 2 animaux, des quantités de 20 et de 50 µCi de ^{3}H sérotonine (activité spécifique 2 à 10 Ci/mM) et ^{3}H Dopamine (activité spécifique 10 à 15 Ci/mM), en solution dans 0,1 ml d'eau de mer synthétique. Les animaux ont été sacrifiés au bout de 6 h, 2 h et 0 h 30. Les chaînes nerveuses grossièrement disséquées et les prostomiums, après avoir été lavés 15 min dans l'eau de mer, ont été fixés dans du glutaraldéhyde 5 % dans du tampon cacodylate 0,4 M puis post-osmiés. Un certain nombre d'échantillons ont été simplement fixés au tétroxyde d'osmium 2 % dans du tampon de Palade. Le traitement des coupes fines a été conduit dans les conditions proposées par Larra et Droz (1970). L'exposition à l'abri de la lumière et au froid des lames recouvertes d'émulsion L 4 d'Ilford, a duré 7, 9 ou 11 semaines ; temps au terme desquels le 1/3, chaque fois, des échantillons a été révélé au Microdol.

3°- TECHNIQUES BIOCHIMIQUES

a - Dosages spectrophotofluorimétriques

Nous avons utilisé pour chacune des 3 déterminations que nous avons faites en collaboration avec P. L'Hermite, des lots d'une trentaine d'animaux sur lesquels ont été prélevés :

- les chaînes nerveuses ventrales grossièrement disséquées (et comportant par conséquent un contingent de muscle et d'épiderme évalué à 2 ou 3 fois le poids du tissu nerveux)
- les ganglions cérébroïdes enveloppés de leurs gaines
- des fragments de la musculature pariétale auxquels le tégument restait adhérent.

De chacun de ces échantillons tissulaires, des aliquots étaient prélevés, après broyage au mortier des tissus congelés dans l'azote liquide. Les catécholamines : noradrénaline (NA), dopamine (DA) et adrénaline (A) ont été dosées selon les techniques de Laverty et Sharman (1964, 1965), et de Crawford et Yates (1970). Pour la sérotonine (5 HT) nous avons employé la technique de Bertler (1961).

b - Etude radiochimique du métabolisme des amines catéchiques après injection de ^{3}H Tyrosine.

α) Analyse chromatographique des dérivés catéchiques.

La L-Tyrosine ^{3}H-3-5 (25 Ci/mMole) est injectée dans la cavité coelomique à la dose de 150 µCi par animal ; les glycères sont réparties en lots de 2 animaux. Les prélèvements du tissu nerveux (chaîne nerveuse et cérébroïde) sont effectués sur chaque lot au bout de : 3 h, 5 h, 3 j et 6 j, après l'injection du précurseur. Deux animaux servent de témoin pour la mesure du "bruit de fond".

Les tissus sont homogénéisés, déprotéinéisés et les précurseurs des amines ainsi que leurs métabolites sont séparés par chromatographie bidimensionnelle sur couche mince de cellulose (D.C. Fertig platten cellulose

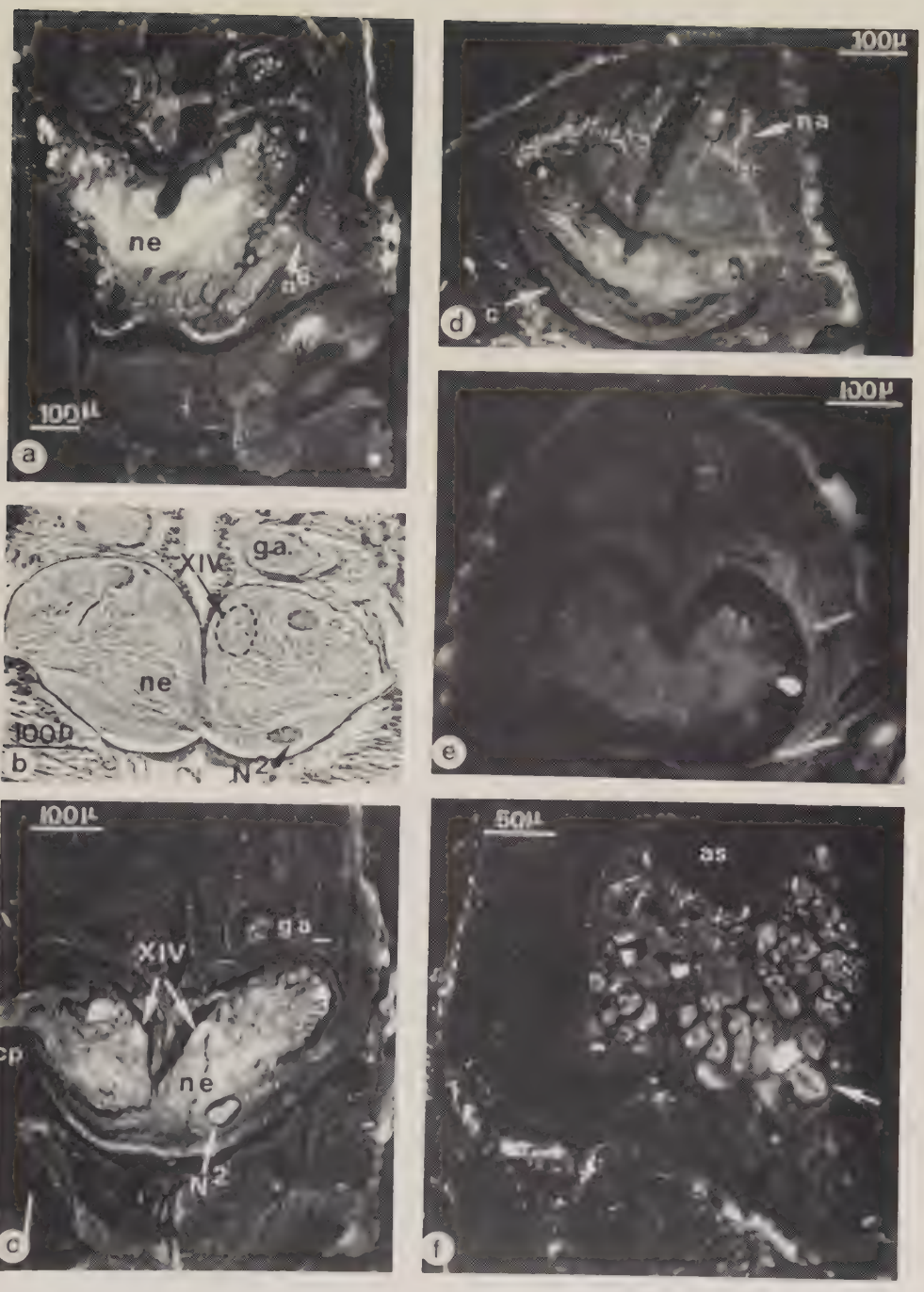
Merck), selon la technique de Fleming et Clark (1970). Les dépôts sur les plaques de chromatographie sont de 25 µl. Après grattage des taches, la poudre de cellulose est mise dans des fioles de comptage contenant une solution de 0,5 % de PPO et de 0,02 % de POPOP dans du toluène triton X 100 (74/26), à laquelle on ajoute 35 g/l de Cab-O-Sil. La radioactivité de chacun des métabolites isolés est mesurée à l'aide d'un compteur à scintillation Nuclear-Chicago.

β) Etude comparée du temps de stockage de la dopamine et et de la noradrénaline dans le système nerveux central de G. convoluta et le canal déférent du Rat.

La L-Tyrosine ^{3}H-3-5 (25 ci/mMole) est injectée dans la cavité coelomique des Annélides à la dose de 100 µCi par animal ; des séries de 2 animaux sont sacrifiées : 30 min., 2 h, 4 h, 8 h, 2 j, 4 j, 7 j, et 10 j après l'injection du précurseur. L'extraction et la séparation de la dopamine et de la noradrénaline tritiées synthétisées par les animaux sont effectuées selon les modalités de la technique de Laverty et Sharman (1964, 1965). Une colonne de Dowex 50-X4 a été utilisée pour cette séparation (Jacquot, 1970). Les éluats sont acétylés puis extraits par le dichlorométhane, on recueille les phases organiques que l'on filtre sur SO_4Na_2 anhydre, dans des fioles de comptage. Après évaporation à 37° on reprend par 1 ml d'alcool méthylique et on compte en présence du milieu de comptage en scintillation liquide décrit plus haut. On calcule ensuite les rapports : radioactivité de la DA et de la NA/ radioactivité totale pour les divers échantillons.

Parallèlement 300 µCi de Tyrosine ^{3}H-3-5 ont été injectés à des rats, par la veine caudale. Les canaux déférents de ces animaux ont été prélevés aux mêmes temps puis traités exactement dans les mêmes conditions que les échantillons provenant des glycères.

fig. 39 a-f. Coupes frontales du ganglion cérébroïde à différents niveaux. a:Réaction de Falck;b:Coloration selon Palmgren; c:Réaction de Falck. Les cellules du nucleus XIV (flèches) présentent une fluorescence jaune, d:Réaction de Falck après traitement à la réserpine, e:Préparation témoin = Echantillon non traité par les vapeurs de paraformaldéhyde après lyophilisation, f:Exemples de cellules présentant une couronne de fluorescence verte dans leur péricaryon. as=appareil sacculaire, c= capsule enveloppante du cérébroïde, cp=collier périoesophagien, ga=ganglion annexe du cérébroïde, N^2=neurone géant, n^6=nerf nucal, na=nerf antennaire, ne=neuropile, XIV=nucleus XIV.


ne
as
100µ
a
100µ
na
d
100µ
e
ga.
XIV
ne
100µ
b
N2
100µ
ga
XIV
cp
ne
N2
c
50µ
as
f

C - RESULTATS

1°- LOCALISATION DES AMINES BIOGENES PAR LA METHODE DE FALCK ET COLL.

a - Ganglion cérébroïde

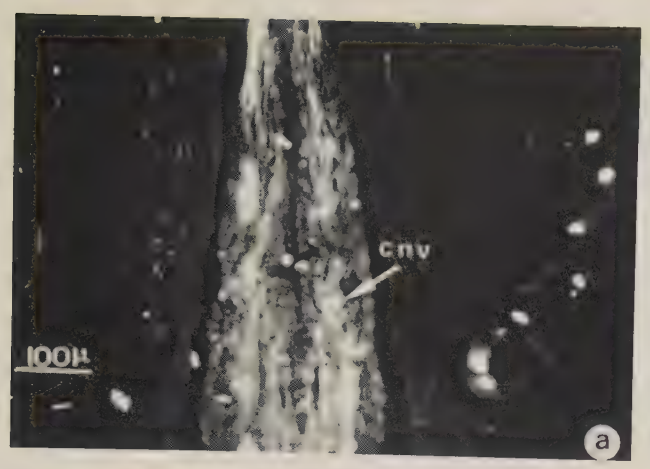
La quasi-totalité des nucleus du ganglion cérébroïde précédemment décrits comporte des neurones présentant une fluorescence verte (fig. 39a,c). A un grossissement suffisant (fig. 39f), on distingue nettement la disposition annulaire de cette fluorescence autour du noyau qui apparaît en fantôme. Des petites taches jaunes, ou jaune-orangé sont généralement présentes dans les péricaryons de ces cellules. L'abondance des lysosomes observés en microscopie électronique (fig.33,34) porte à homologuer à ces organites ces taches fluorescentes. Dans certains nucleus on observe une ou plusieurs cellules fluorescentes jaunes. Ceci est par exemple bien mis en évidence dans le nucleus XIV (fig. 39c) où la même cellule se retrouve dans les 2 nucleus symétriques. Les neurones géants ont toujours un cytoplasme fluorescent vert. La grande dimension de ces cellules fait qu'ils sont difficiles à conserver sur des coupes effectuées à partir de pièces lyophilisées, un trou se rencontrant souvent à la place qu'ils devraient occuper.

Le neuropile, que l'on peut observer sur les fig. 39a,c à différents niveaux, présente une fluorescence de fond verte, souvent intense, à laquelle se mêlent par endroit quelques fibres jaunes qui représentent peut-être les prolongements des cellules à la fluorescence de même couleur, signalées plus haut. Les racines du collier péri-oesophagien (fig. 39c) ainsi que les nerfs que l'on peut observer à leur sortie du ganglion cérébroïde, ont également une fluorescence verte.

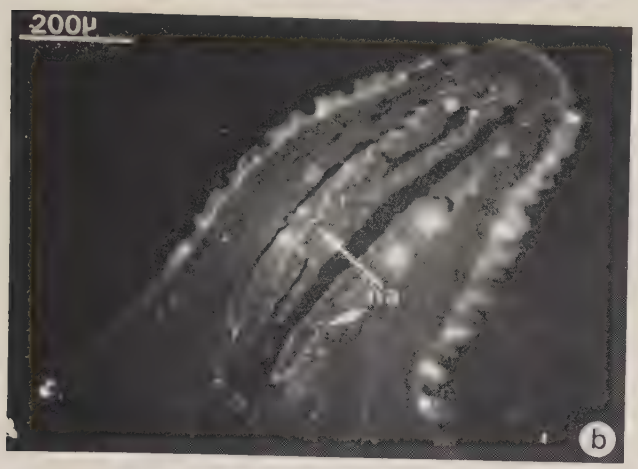
L'appareil sacculaire (fig. 39f) est toujours dépourvu de toute substance fluorescente.

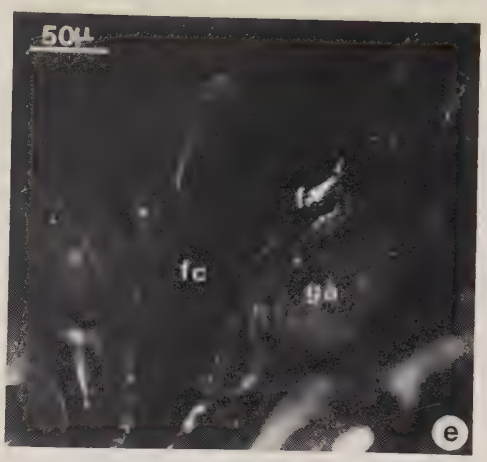
Au niveau des nerfs antennaires qui courent dans toute la longueur du prostomium, il est aisé d'observer sur des fibres isolées des varicosités à la vive fluorescence verte (fig. 40e).

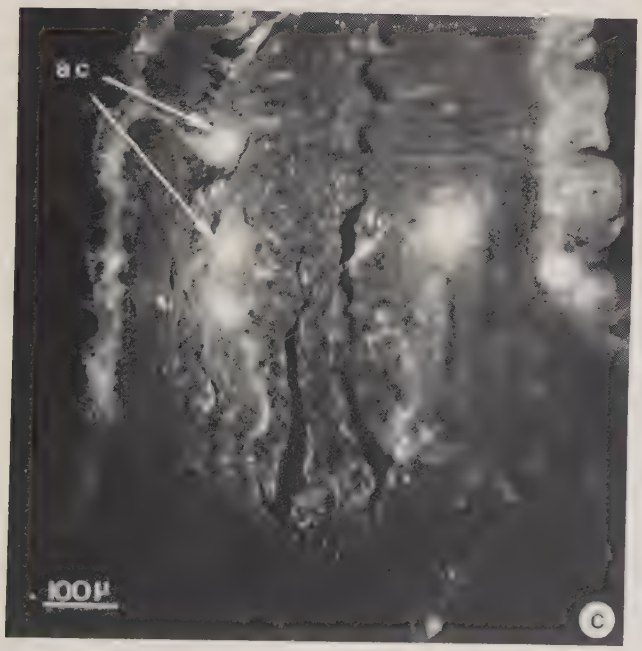
fig. 40 a - e:Réaction de Falck (microscopie de fluorescence),f:Coloration topographique(fuchsine paraldéhyde, picro-indigo-carmin).
a:Chaine nerveuse ventrale, coupe frontale;b:Prostomium, coupe frontale;c:prostomium, coupe frontale au niveau des amas cellulaires prostomiaux; d:ganglion sous-oesophagien, coupe frontale au niveau de gros neurones (flèches) dont le péricaryon présente une couronne de fluorescence verte;e:prostomium en coupe frontale, une fibre variqueuse (flèche) du nerf antennaire est visible; f:coupe frontale du prostomium et du ganglion cérébroïde.
ac = amas cellulaires prostomiaux, cer = ganglion cérébroïde, cnv = chaine nerveuse ventrale, f = fibre variqueuse du nerf antennaire, fc = fente coelomique prostomiale, ga = ganglion annexe du cérébroïde

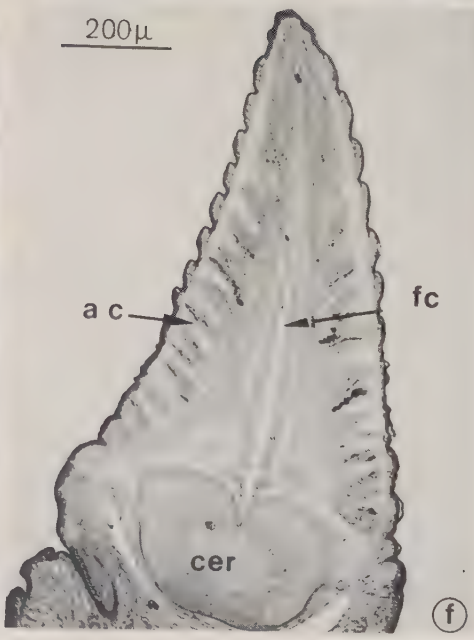

cnv
100µ
a

50µ
d


200µ
ha
b


50µ
fc
ga
e


ac
100µ
c


200µ
a c
fc
cer
f

Les témoins réserpinés (fig. 39d) conservent une légère fluorescence de fond, cependant que la capsule enveloppante du cérébroïde demeure fluorescente avec la même intensité que pour les échantillons non réserpinés. Les pièces qui n'ont pas été exposées aux vapeurs de paraformaldéhyde sont à peu près dépourvues de toute fluorescence (fig. 39f).

b - Chaîne nerveuse ventrale et ganglion sous-oesophagien

Au niveau du ganglion sous-oesophagien (fig. 40d) une fluorescence verte des pericaryons des cellules qui le composent est nettement visible ; elle est en tous points semblable à ce que nous venons de décrire pour les neurones du ganglion cérébroïde.

Les fibres de la chaîne nerveuse ventrale offrent aussi une intense fluorescence verte comportant de place en place quelques fibres jaunes (fig. 40 a). Les témoins réserpinés perdent cette fluorescence presque totalement.

c - Autres structures fluorescentes.

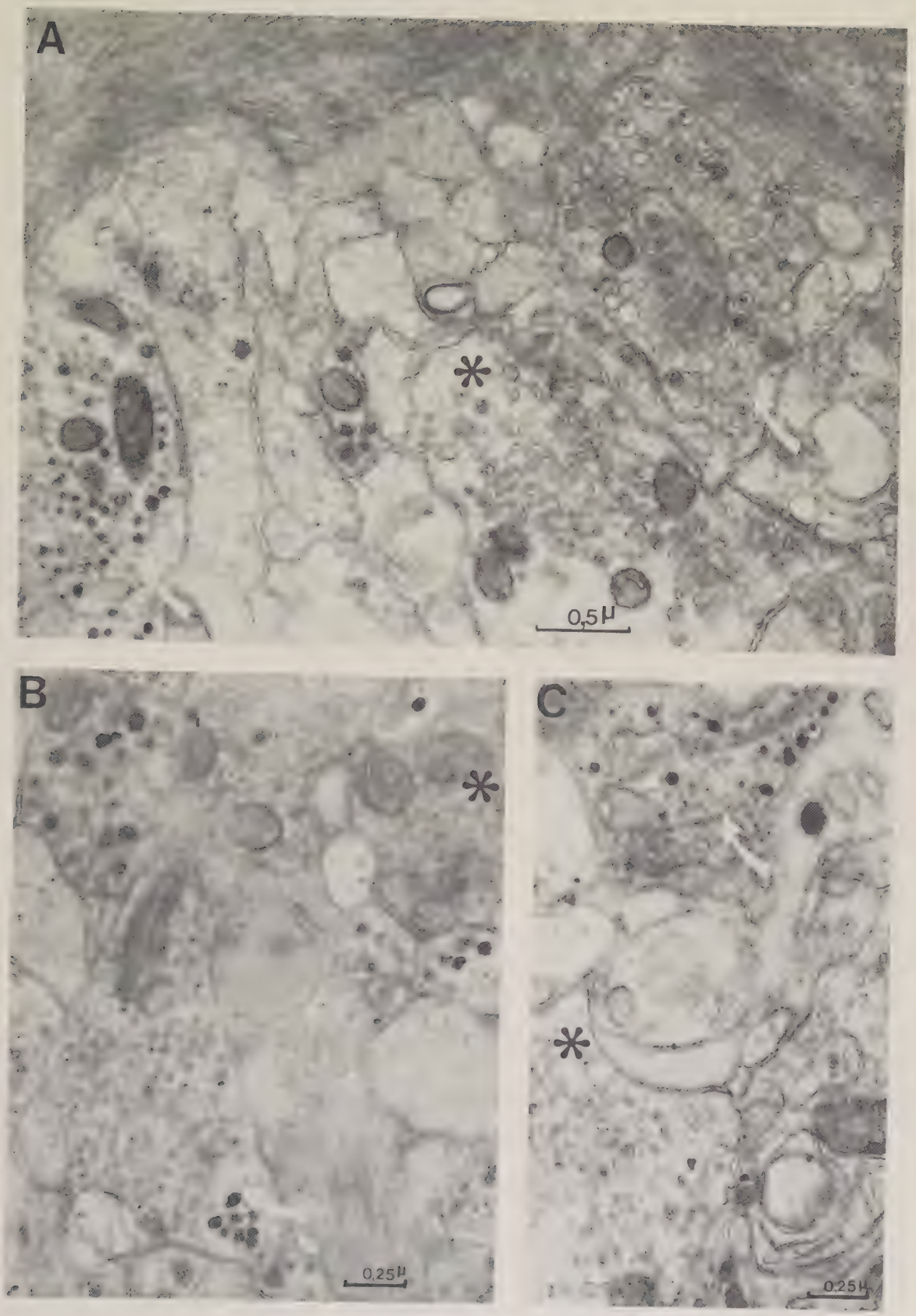
Au niveau de l'épiderme on observe un certain nombre de cellules à fluorescence jaune intense (fig. 39a) ; la réserpine ou l'absence de traitement par le paraformaldéhyde (fig.39d-e) ne modifient guère cette fluorescence.

Enfin les amas cellulaires prostomiaux décrits plus haut (cf. p. 24), bien mis en évidence par une coloration à la fuchsine paraldéhyde, sont très fluorescents en jaune après traitement par la technique de Falck (fig. 40c). Il ne semble pas que cette fluorescence soit atténuée, ni par la réserpine, ni lorsque le passage aux vapeurs de paraformaldéhyde est omis.

2° - ESSAI D'IDENTIFICATION DES FIBRES ADRENERGIQUES AU NIVEAU ULTRASTRUCTURAL -

En l'absence des données décisives qu'aurait pu nous fournir l'étude autoradiographique, nous en sommes réduits à l'identification incertaine en microscopie électronique, de fibres à allure adrénergique au niveau du neuropile du ganglion cérébroïde.

fig. 41 - A,B et C coupes au niveau du neuropile du ganglion cérébroïde. ↖ divers types de fibres à allure adrénergique
* fibre à allure cholinergique.
A Fixation : Tampon cacodylate 0,4 M +Glutaraldéhyde 6,25%, OsO_4 2% x 3I.000
B et C Fixation : Tampon Sorensen + Glutaraldéhyde 3%, OsO_4 2% x 40.000


A
0,5 µ
B
0,25 µ
C
0,25 µ

Les figures 41 A, B et C donnent quelques exemples de ce que l'on trouve dans l'enchevêtrement des fibres constituant ce neuropile. Nous avons déjà fourni (chapitre III) des exemples de fibres riches en très grosses vésicules (diamètre supérieur à 1.000 Å) au contenu très dense aux électrons, et généralement considérées comme caractéristiques de la neurosécrétion. Nous avons affaire ici à des fibres contenant des vésicules de 300 à 700 Å de diamètre, et dont le contenu de densité variable occupe une proportion plus ou moins grande du volume interne de la vésicule. Il s'agit exclusivement d'images prises sur des coupes d'un matériel fixé à la glutaraldéhyde et post-osmié. Seule la quantité de glutaraldéhyde est différente dans les exemples fournis. La figure 41 A est relative à un matériel fixé avec du tampon cacodylate contenant 6,25 % de glutaraldéhyde cependant que les figures 41 B et C correspondent à des fixations réalisées avec du tampon Sorensen contenant seulement 3 % de glutaraldéhyde. Les petites vésicules (300 à 400 Å de diamètre) à très petit grain dense que l'on trouve dans une fibre de la figure 41 B (flèche blanche) ne semblent pas devoir être mises en corrélation avec la faible teneur en aldéhyde du fixateur utilisé, car avec ce même fixateur on observe des vésicules de 400 à 700 Å de diamètre dans d'autres fibres (fig. 41 C) tout à fait comparables à celles que l'on retrouve dans les images obtenues sur du matériel fixé avec une plus forte proportion de glutaraldéhyde. Dans tous ces cas nous avons à faire à une grande diversité de vésicules mais dont le diamètre est toujours compris entre 300 et 700 Å présentant des contenus de densité variable aux électrons. C'est à des vésicules du même genre que plusieurs auteurs rapportent les parties terminales des fibres aminergiques (Richardson 1963, Taxi 1965, Hökfelt 1970, Hökfelt et Ljungdahl 1972, Taxi et Sotelo 1972).

On rencontre également dans diverses fibres des mêmes figures, des vésicules à contenu dense de plus grand diamètre (800 à 1.000 Å). Les différents auteurs sont d'accord pour ne leur reconnaître aucune spécificité.

Nous n'avons enfin, jamais observé d'images évoquant un contact synaptique au niveau des fibres d'allure adrénergique.

3°- ETUDE BIOCHIMIQUE DES AMINES BIOGENES

En collaboration avec P. L'Hermite (1973) nous avons étudié les amines biogènes du système nerveux central de G. convoluta selon 3 approches :

- détermination du taux des catécholamines et de la 5 hydroxytryptamine dans le cérébroïde et la chaîne nerveuse ventrale.

- analyse chromatographique des dérivés catéchiques et de leurs catabolites, après injection de tyrosine ^{3}H comme précurseur.

- étude de l'évolution du stockage de la noradrénaline et de la dopamine au cours du temps.

a - Détermination des taux de catécholamines et de 5 hydroxytryptamine.

Trois dosages ont été réalisés sur des séries de 20 à 30 animaux. Les résultats de ces mesures effectuées selon la technique de Laverty et Sharman (1964, 1965) sont rassemblés dans le tableau suivant ; ils sont exprimés en µg/g de tissu frais

	Ganglion cérébroïde	Chaîne nerveuse ventrale
Noradrénaline	$3,25 \pm 1,78$	$1,64 \pm 0,34$
Dopamine	$2,58 \pm 0,54$	$0,48 \pm 0,28$
Adrénaline	$7,00 \pm 1,41$	$9,07 \pm 1,37$
5-Hydroxytryptamine	$17,70 \pm 4,70$	$21,90 \pm 2,10$

Il convient de préciser au sujet de ces dosages, qu'une erreur inévitable dans les pesées, résulte de la condensation incontrôlable de vapeur d'eau atmosphérique sur les échantillons conservés au froid pendant les heures nécessaires aux prélèvements.

En ce qui concerne les chaînes nerveuses ventrales, la dissection a été grossièrement effectuée pour ne pas allonger exagèrément les temps de prélèvement. Les taux d'amine contenue dans le seul tissu nerveux est sans aucun doute supérieur à ceux que nous indiquons, qui sont en fait relatifs à

la chaîne nerveuse et à une fraction relativement importante de muscle et d'épiderme environnants, comme nous l'avons déjà signalé.

La quantité de matériel utilisée pour ces dosages était de l'ordre de 250 à 300 mg pour les chaînes nerveuses ventrales, et de l'odre du milligramme pour les ganglions cérébroïdes isolés.

b- Analyse des amines catéchiques et de leurs métabolites

Nous avons employé la technique chromatographique de Fleming et Clark (1970) légèrement modifiée. Après injection de tyrosine tritiée nous avons effectué des prélèvements de tissu nerveux (ganglions cérébroïdes + chaine nerveuse ventrale) au bout de 3h, 5h, 3j et 6 j. La figure 42, ci-dessous indique les substances que nous avons pu identifier chez G. convoluta par cette méthode.

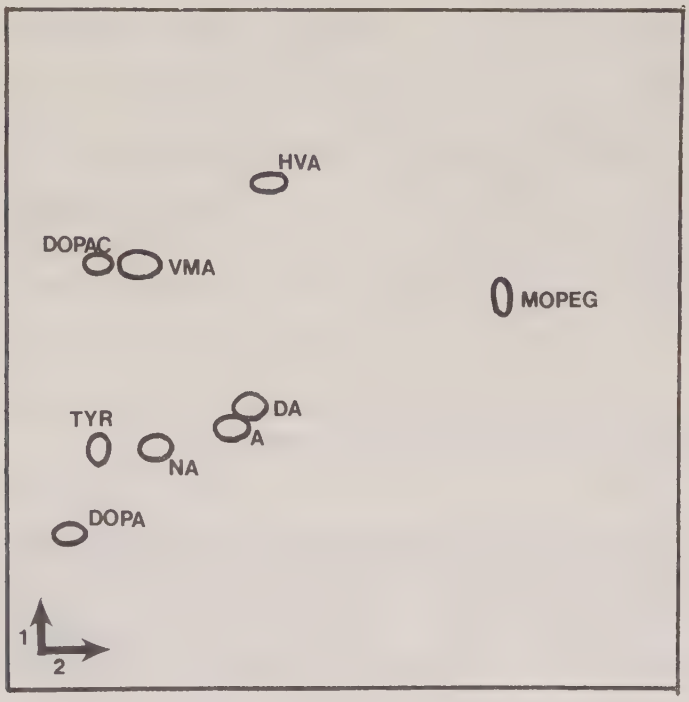


fig. 42 - Métabolites des catécholamines séparés par chromatographie bi-dimensionnelle (selon Fleming et Clark). Seuls les métabolites présents dans le système nerveux de G. convoluta ont été figurés.
A = adrénaline, NA = noradrénaline, DA = dopamine, DOPA = 3,4 dihydroxyphenylalanine, TYR = tyrosine, VMA = acide 4-hydroxy-3-méthoxymandélique, MOPEG = 4-hydroxy-3-méthoxyphényléthyléne glycol, DOPAC = 3-4-dihydroxyphénylacétique acide, HVA = acide homovanillique.

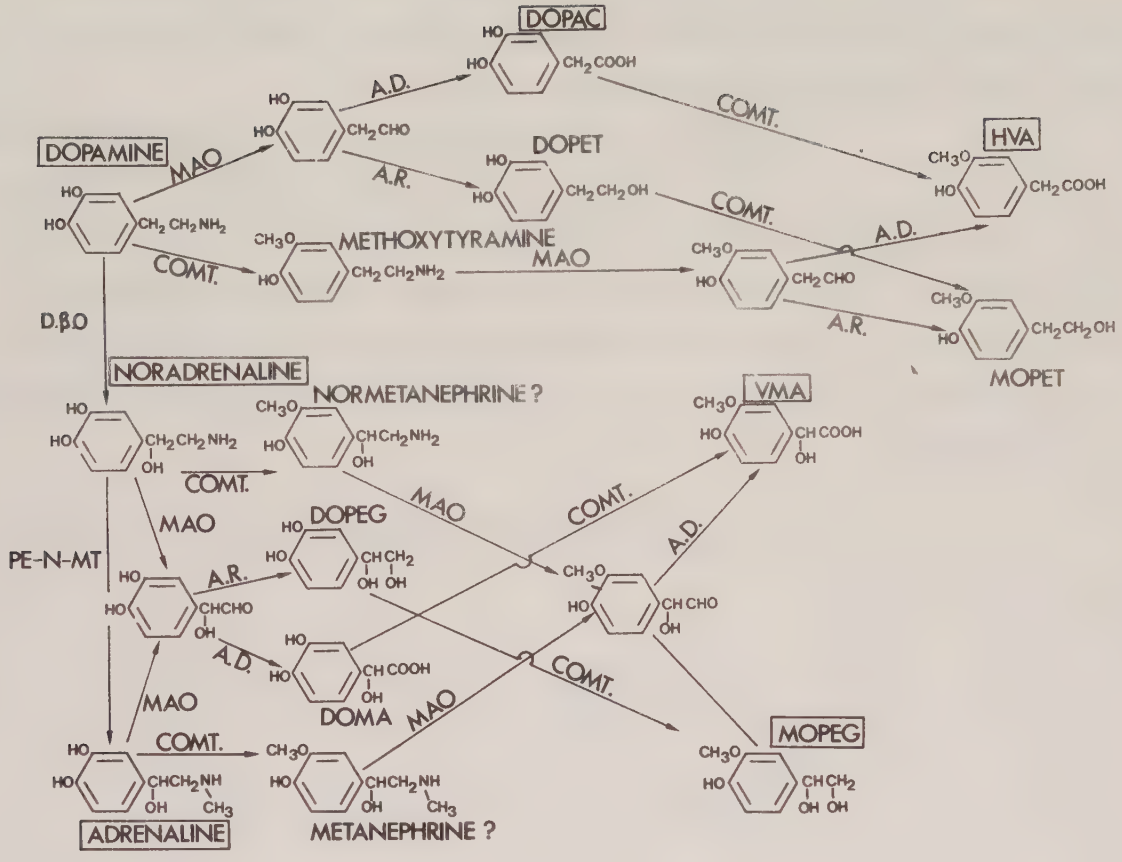


fig 43 METABOLISME DES CATECHOLAMINES

Abbréviations:
Substances : DOPEG, 3,4-dihydroxyphenyléthylèneglycol; DOPET, 3,4 dihydroxyphenyléthanol; DOMA, Acide 3,4-dihydroxymandélique; DOPAC, Acide 3,4-dihydroxyphenylacétique; MOPEG, 4-hydroxy3-methoxy phenyléthylèneglycol; MOPET 4-hydroxy-3-methoxy-phenyléthanol; HVA, Acide homovanillique; VMA, Acide, 4-hydroxy-3-methoxymandélique.

Enzymes : D-β-O, dopamine-β-oxidase; PE-N-MT, phenyl-ethanol-amine-N-methyl-transférase; MAO, monoamine oxidase; A.D., aldéhyde de-hydrogénase; A.R., aldéhyde réductase; COMT, catéchol-O-methyl-transférase.

Les substances révélées chromatographiquement,présentes dans le système nerveux central de G. convoluta sont encadrées. Les ? signalent les substances dont la présence dans les mêmes échantillons est possible.

Au niveau des taches caractéristiques de la tyrosine (T) de la di-hydroxyphénylalanine (DOPA), de la dopamine (DA) de la noradrénaline (NA) et de l'adrénaline (A) nous avons pu recueillir des quantités significatives de ces substances marquées. Les taux de tyrosine tritiée décroissent régulièrement depuis les premières heures d'incubation jusqu'au 6me jour, cependant qu'au bout de 5 h les taux de DOPA et de dopamine tritiées passent par un maximum. Les quantités de noradrénaline et d'adrénaline synthétisées à partir du précurseur marqué demeurent trop faibles (quelques dizaines de c.p.m. par mg de tissu) pour permettre de tirer des conclusions.

Nous avons aussi recueilli au niveau des taches correspondant à l'acide 3-4-dihydroxyphénylacétique (DOPAC), et à l'acide homovanillique (HVA) des quantités de produits radio-actifs qui laissent présager qu'une des chaînes métabol iques de dégradation de la dopamine, connue chez les Mammifères, existe également chez l'annélide que nous avons étudiée (fig.43).

Pour ce qui concerne le métabolisme de la noradrénaline et de l'adrénaline, des quantités décelables de l'acide 4-hydroxy-3-méthoxymandélique (VMA) et de 4-hydroxy-3-méthoxyphényléthyléneglycol (MOPEG) laissent également penser que des voies métaboliques comparablesà celles connues chez les Mammifères existent chez G. convoluta. Les traces de normétadrénaline et de métadrénaline que nous avons pu détecter sont insuffisantes malheureusement pour affirmer que les étapes intermédiaires passent par ces dérivés O-méthylés.

Des deux essais que nous avons fait à l'aide de cette intéressante technique chromatographique il nous paraît difficile d'obtenir, pour le matériel qui nous occupe, des quantités suffisantes de tissu nerveux qui permettraient de tracer avec sécurité toutes les étapes du métabolisme des amines catéchiques.

c - Etude comparée de la synthèse et du stockage de la dopamine et de la noradrénaline chez G. convoluta et chez le rat

Après avoir vérifié la présence des amines catéchiques et de leurs principaux métabolites habituels dans le système nerveux central de

G. convoluta, il nous a paru intéressant, pour d'éventuels travaux ultérieurs en autoradiographie notamment, de comparer les vitesses de synthèse et les durées de stockage de la dopamine et de la noradrénaline dans le système nerveux central de l'annélide que nous étudions, et au niveau d'une structure périphérique d'un mammifère. Nous avons pris comme matériel de référence, le canal déférent du rat dont on connaît la richesse en catécholamines. La fig. 44 permet de suivre l'évolution du taux de dopamine et de noradrénaline tritiées en pourcentage de la radioactivité totale des structures étudiées.

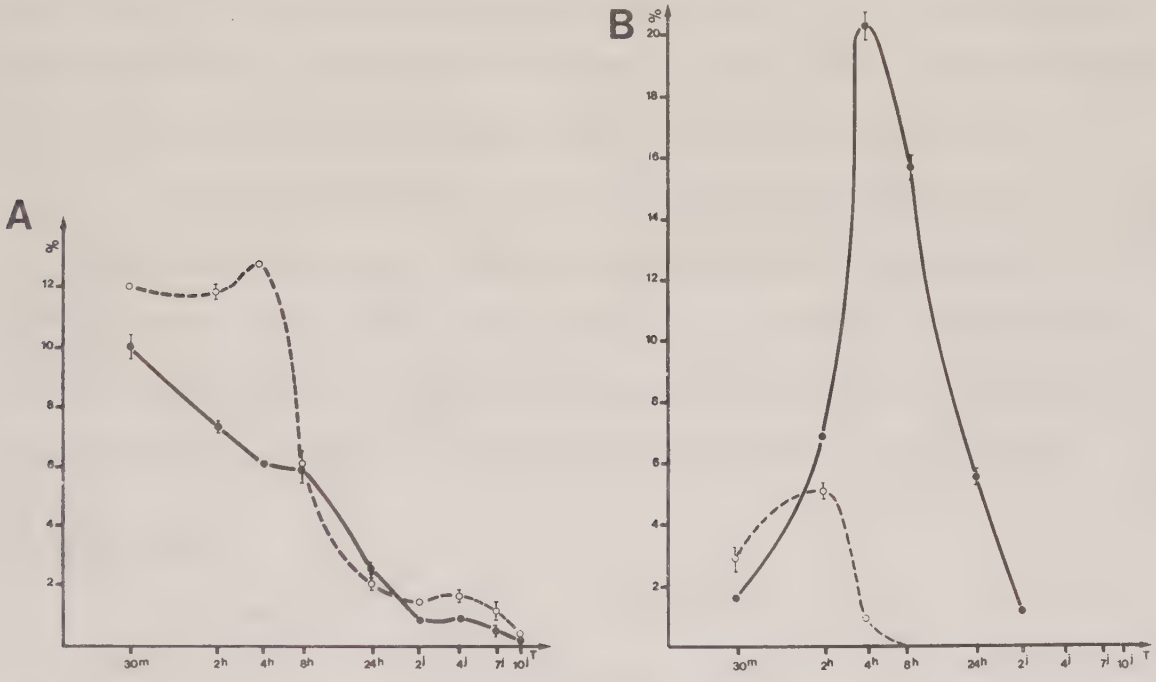


fig 44 - Evolution de la dopamine et de la noradrénaline radioactives : a) dans le système nerveux central de G. convoluta et b) dans le canal déférent du Rat.

en abcisse ont été portés les temps de prélévement après l'injection de L-Tytosine ^{3}H (coordonnée logarithmique)

en ordonnée les pourcentages de dopamine (- - - - -) et de noradrénaline (———) synthétisés, en % de la radioactivité totale de la structure considérée (coordonnée cartésienne).

On constate à l'examen de ces courbes que :

1°-) 30 minutes après l'injection du précurseur, les taux de dopamine et de noradrénaline sont plus élevés dans le système nerveux central de la glycère

que dans le canal déférent du rat. Le taux de dopamine étant plus élevé que celui de la noradrénaline chez les 2 animaux.

- 2°) 4 heures après le début de l'expérience, la dopamine a pratiquement disparu chez le rat tandis que la noradrénaline est à son taux maximum. Chez la glycère, le taux de dopamine s'élève légèrement entre 30 minutes et 4 heures alors que décroît de la moitié de sa valeur initiale celui de la noradrénaline.

- 3°) 2 jours suffisent pour que la totalité de la noradrénaline soit éliminée chez le rat. Chez la glycère les taux de dopamine et de noradrénaline sont équivalents au bout de 8 heures, puis décroissent à peu près parallèlement jusqu'au 2me jour. Un très faible pourcentage des 2 amines reste détectable jusqu'au 10me jour, dans le système nerveux central de l'annélide.

Dans le système nerveux central de G. convoluta on note donc par comparaison avec ce que l'on observe au niveau du canal déférent du rat, une vitesse de synthèse plus rapide durant les 2 premières heures après l'injection du précurseur et une rétention beaucoup plus longue des 2 amines avec une synthèse bien moindre de la noradrénaline à partir de la dopamine.

D - DISCUSSION

Comme nous l'avons indiqué dans l'introduction de ce chapitre les travaux concernant la présence d'amines biogènes chez les Polychètes sont rares. Dans les trois familles étudiées : Nephthyidae par Clark (1966), Nereidae par Warembourg et Dhainaut-Courtois (1969) et Dhainaut-Courtois (1970 et 1972), Glyceridae par Manaranche et L'Hermite (1973) la technique de Falck a permis la mise en évidence de fibres fluorescentes jaunes et vertes, au niveau du système nerveux central.

Cette fluorescence jaune est attribuée à la sérotonine chez les Nephthyidae et les Glyceridae par les auteurs qui l'ont observée. Pour cette dernière famille nous avons pu doser la sérotonine par des méthodes biochimiques.

Cette même substance a d'ailleurs été retrouvée par Welsh et Moorhead (1960) dans trois espèces de Polychètes : Glycera dibranchiata, Arenicola marina et Amphitrite ornata chez lesquelles ces auteurs ont déterminé des taux variants de 3,1 à 5,4 µg/g dans la chaîne nerveuse ventrale.

Chez les Nereidae par contre Dhainaut-Courtois pense devoir attribuer la fluorescence jaune observée par la technique de Falck non à la sérotonine mais à un de ses dérivés méthylés : la bufoténine que cet auteur a détectée chromatographiquement (Dhainaut-Courtois et Coll. 1969). Quant au problème de la présence des catécholamines dans le système nerveux central des mêmes animaux nous devons constater qu'indépendamment des travaux anciens de Poll (1909) et de Gaskell (1914) et depuis que nous disposons de la technique de Falck, aussi bien chez les Nephthydae que chez les Nereidae et les Glyceridae une fluorescence verte a été observée par les auteurs ayant utilisé cette technique, au niveau de corps cellulaires et de fibres du cérébroïde ou de la chaîne nerveuse ventrale. Chez les Nereidae une incertitude semble subsister : Dhainaut-Courtois (1972) n'exclut pas la possibilité de la présence de catécholamines mais,la faiblesse de la fluorescence observée,ne lui permet pas de conclure en toute certitude.

Nous n'avons pas trouvé dans la littérature d'autre travail biochimique sur les Polychètes, que celui que nous avons effectué en collaboration avec L'Hermite. Il ne semble pas y avoir de doute, en raison de la variété des techniques utilisées, quant à la présence de catécholamines chez G. convoluta. A la suite de ces différents travaux, la certitude d'une médiation adrénergique chez les Polychètes ne peut bien sûr être acquise. Ici plus encore que pour la médiation cholinergique les preuves irréfutables sont rarissimes même sur les matériels les plus favorables. La répartition des cellules fluorescentes, vertes ou jaunes ne peut au plus, que suggérer un processus de médiation adrénergique. Notre observation d'une fluorescence jaune au niveau des amas prostomiaux chez G. convoluta, amas dont la nature sécrétoire, non nerveuse, est pour nous évidente, montre les dangers d'une interprétation hâtive. Seule

parmi les auteurs qui dans les années récentes se sont occupés de ces questions, M.E. Clark a cru pouvoir avancer que la fluorescence verte due aux catécholamines chez les Nephthydae était associée à certaines cellules sensorielles cependant que la fluorescence jaune était caractéristique de l'innervation de la musculature motrice.

E - CONCLUSION

Sur la base de ce qui est connu aujourd'hui chez les Polychètes, on peut raisonnablement considérer comme possible une médiation adrénergique chez ces animaux. Cette possibilité est renforcée par ce qui est connu des autres Annélides : Oligochètes et Hirudinées.

Chez les Oligochètes, Rude 1966 a mis en évidence par la méthode de Falck la présence de catéchol-amines et de sérotonine dans le système nerveux central de Lumbricus terrestris. Dans un ganglion de cette même chaine nerveuse, Rude estime qu'au moins 1/10 de la population des motoneurones et des interneurones contiennent soit de la sérotonine, soit des catéchol-amines. Ehinger et Myhrberg (1972) ont vérifié en microspectrofluorométrie la nature chimique du produit fluorescent dans les fibres et les neurones, ce qui leur permet d'affirmer la présence de noradrénaline et de dopamine ainsi que de sérotonine au niveau du système nerveux central de L. terrestris. En microscopie électronique, Myhrberg (1972) a recoupé par diverses techniques de fixation les données de la microscopie de fluorescence et confirmé ainsi que les petites vésicules à contenu dense aux électrons, de 300 à 500 Å de diamètre observées au niveau du neuropile et celles plus grandes de 600 à 900 Å situées dans les pérycaryons, de même densité électronique, devaient contenir une amine biogène. Plus récemment enfin, Koritsansky (1974), chez un autre Oligochète Allolobophora caliginosa, en utilisant les mêmes techniques, aboutit aux mêmes résultats.

Chez les Hirudinées non plus, la présence de catécholamines et de sérotonine ne semble point faire de doute. Ehinger et coll. (1968) ont détecté la présence de catécholamines (probablement de la noradrénaline) et

de 5 HT dans la chaine nerveuse ventrale d'Hirudo medicinalis. Dans un remarquable travail mettant en oeuvre : la technique de Falck et les mesures microspectrofluorimétriques qui peuvent l'accompagner, la microscopie électronique et une analyse chromatographique de cellules isolées, Rude et coll. (1969) démontraient la présence de 5 HT dans les cellules de Retzius de la Sangsue. Enfin Coggeshall (1972) par les techniques autoradiographiques en microscopies optique et électronique, confirmait la présence de sérotonine dans ces mêmes cellules de Retzius. Ce dernier travail est la seule référence à une application de l'autoradiographie au problème des amines biogènes chez les Annélides, que nous ayons pu trouver.

L'ensemble de ces travaux est, nous semble-t-il assez convaincant de la présence de divers médiateurs adrénergiques dans le système nerveux des Annélides. Il reste évidemment là aussi un important travail à effectuer, en électrophysiologie notamment, pour affirmer l'utilisation de ces médiateurs, en tant que tels dans cet Embranchement.

-o-o-o-o-

CHAPITRE V

POSSIBILITES DE REGENERATION DU CEREBROIDE

A - INTRODUCTION

L'importance du rôle inducteur joué par le système nerveux dans les processus régénératifs est connu depuis longtemps. Chez les Invertébrés, les Annélides ont offert aux expérimentateurs un matériel de choix. Chez les Vertébrés, les Amphibiens ont sans doute fait l'objet des travaux les plus nombreux. Parmi les Annélides, les Oligochètes en premier lieu, mais aussi les Polychètes ont été beaucoup étudiés. Herlant-Mewis (1964) a fait, il y a une dizaine d'années une revue exhaustive des travaux dans ce domaine.

Les deux problèmes essentiels que se sont posés les différents auteurs peuvent se résumer ainsi :

- quelle est l'origine des éléments de régénération ?
- quelle est la nature du rôle joué par le système nerveux ?

En ce qui concerne la première question, les travaux de Cresp (1964), de Thouveny (1967), et de Boilly (1967-68) convergent pour affirmer la spécificité des trois feuillets primordiaux. Dans tous les cas étudiés, qui concernent un grand nombre de familles, on a observé que les structures ectodermiques, mésodermiques et endodermiques régénéraient chacune les éléments de même origine embryonnaire. Chez Polydora flava, Thouveny (1959) a observé que les cellules formant l'ébauche du cerveau provenaient de la différenciation des cellules ectodermiques de la zone profonde. Cresp (1964) chez Salmacina incrustans constate que le ganglion cérébroïde s'édifie à partir du bourrelet stomodeal du régénérat, cependant que chez Hydroïdes norvegica cette structure nerveuse s'édifie à partir de l'ectoderme cicatriciel. Chez Syllis amica, Boilly (1967) a établi que l'épiderme ancien des bords de la plaie était à l'origine des cellules nerveuses du ganglion cérébroïde néoformé, cependant que les fibres de la chaîne nerveuse ventrale venaient à la rencontre des neurones néoformés.

Pour ce qui est de la nature du rôle joué par le système nerveux dans le déclenchement du processus de régénération, on en est réduit à des hypothèses. D'autant que dans bien des cas, chez les Oligochètes et plus rarement chez les Polychètes, la régénération de la partie antérieure du corps peut s'effectuer en l'absence de chaîne nerveuse ventrale au niveau du front de section. Par exemple, Kiortis et Moraitou (1965) ont obtenu chez Spirographis spallanzanni, la régénération d'une tête, à vrai dire de petite taille, en l'absence de chaîne nerveuse dans 88 % des cas. Alors que Okada (1934) chez le Sabellien Myxicola aesthetica, en l'absence de chaîne nerveuse centrale, ne parvenait pas à obtenir une régénération céphalique. De plus, chez les Oligochètes, Eisenia foetida (race unicolor) ne régénère pas en l'absence de chaîne nerveuse (Rozier 1960 et Avel 1961), cependant que la même espèce mais de race typica fournit des résultats opposés (Avel 1932-1947 et Herlant Mewis et Deligne 1965). Il apparaît donc que beaucoup reste à faire, sur le plan biochimique notamment, pour comprendre le rôle "trophique" et/ou le rôle "organisateur" du système nerveux chez les Annélides, comme d'ailleurs chez les Amphibiens.

La situation anatomique assez exceptionnelle du système nerveux prostomial des Glyceridae, où les ganglions cérébroïdes sont bien isolés de l'épiderme, nous a paru offrir des conditions privilégiées pour étudier non pas globalement, comme ce fut toujours le cas, la régénération du prostomium, mais seulement celle du cérébroïde. A notre grande surprise des essais préliminaires nous ont montré qu'une masse nerveuse se reconstituait après ablation du seul ganglion cérébroïde ; nous avons alors tenté une approche morphologique et biochimique du phénomène.

B - TECHNIQUES UTILISEES

1° Modes opératoires

Nous avons procédé à 3 types d'opérations :

- ablation totale du prostomium par simple section aux ciseaux en arrière de la bouche.

- résection du cérébroïde par la face ventrale.

- résection du cérébroïde par la face dorsale.

Pour ces différents types d'opération les vers sont anesthésiés par immersion de 15 à 20 min. dans une solution de Cl_2Mg à 8 % dans l'eau du robinet. Les animaux sont étalés entre deux "matelas" de papier "Joseph", largement imprégnés de la solution de Cl_2Mg, puis placés sur la platine d'une loupe binoculaire. Une incision est pratiquée dans l'épiderme et la couche musculaire sous-jacente, à la face dorsale ou ventrale du prostomium selon le type d'expérience effectué, à l'aide de ciseaux à iris de Pascheff-Wolff. Le cérébroïde est saisi avec une pince courbe, et légèrement soulevé, cependant que les différents nerfs qui en partent sont coupés aux ciseaux. Malgré de nombreux essais, et en utilisant du fil d'argent très fin, nous n'avons jamais pu maintenir en place une suture convenable. Aussi avons-nous laissé la plaie béante, et dans la plupart des cas un bouchon cicatriciel s'est formé très rapidement sans hémorragies notables. Dans quelques cas nous avons observé des hernies externes de la paroi coelomique, et bien entendu nous avons éliminé les animaux qui présentaient cet accident post-opératoire. Il nous est apparu indispensable d'opérer des animaux immatures pour éviter d'abord une mortalité importante, souvent immédiate après l'opération, et en cas de survie un colmatage par les produits sexuels, de la cavité laissée libre par l'ablation. Cette dernière condition interdit pratiquement toute expérimentation pour les vers venant de la Manche, de Mars à Septembre. Dès l'opération terminée les animaux sont placés dans de petits cristallisoirs où l'eau est renouvelée 3 ou 4 fois dans l'heure qui suit l'intervention pour éliminer toute trace d'anesthésique. Ils sont maintenus dans ces cristallisoirs dont l'eau est renouvelée chaque jour et que l'on nettoie 2 ou 3 fois par semaine, et toujours conservés dans une pièce à température constante : 15° C $\pm$ 1°. Il semble que pour les survies les plus prolongées que nous ayons obtenues, la présence d'une couche de sable d'1 à 2 cm au fond des

cristallisoirs, permettant aux animaux de s'enfouir, soit une condition très favorable. La résistance des Polychètes au jeûne est très grande, et nous n'avons pas nourri nos animaux durant ces expériences.

2° Techniques morphologiques

Après ablation, au terme de l'expérience, les prostomiums ont généralement été fixés au Duboscq-Brasil, parfois au Carnoy. La coloration au picro-indigo-carmin a été utilisée en routine. Un certain nombre d'échantillons ont été colorés à la gallocyanine pour la mise en évidence des acides nucléiques.

Nous avons fréquemment vérifié la qualité de nos interventions en fixant le cérébroïde après son ablation et en pratiquant une double inclusion gélose-paraffine avant de le débiter en coupes sériées et de le colorer.

Trois séries expérimentales ont été lyophilisées dans les conditions rappelées plus haut (chap. IV), pour pratiquer la technique de Falck et coll.

Pour l'étude des régénérats en microscopie électronique nous avons généralement fixé des fragments de prostomium, isolés sous la loupe au glutaraldéhyde 5 ou 6,25 % dans le tampon cacodylate 0,4 M puis ils ont été ensuite post-osmiés dans une solution d'OsO_4 2 %. Les niveaux de régénération ont été évidemment choisis à partir de coupes semi-fines colorées au bleu de toluidine.

3° Techniques biochimiques

La spécificité et la sensibilité des méthodes possibles pour l'étude des médiateurs dont nous avons vérifié la présence chez G. convoluta, nous a fait préférer à toute autre, la mesure de l'enzyme intervenant au stade ultime de la synthèse de l'acétylcholine. La choline-acétyl-transférase a été mesurée selon la technique radiochimique que nous avons rappelée plus haut (chap. III p. 69), sur 3 séries d'animaux. Pour chaque expérience, des lots de 10 animaux ont été sacrifiés de 1 à 34 jours après ablation du

cérébroïde. Par ailleurs, 2 essais de dosage de l'ADN après injection de thymidine ou de thymine tritiées ne nous ont pas fourni de résultats significatifs, en raison probablement du faible pourcentage de mitoses au cours de ces processus régénératifs.

Pour effectuer l'ensemble des techniques exposées ci-dessus nous avons opéré de 400 à 500 animaux. La mortalité dans les 3 premières semaines suivant l'opération, est inférieure à 5 % quand les conditions de température, de renouvellement de l'eau de mer et de nettoyage des cristallisoirs sont correctement observées. Dans une expérience de longévité post-opératoire portant sur 4 animaux opérés, 2 ont survécu 72 jours à l'ablation du cérébroïde.

C - RESULTATS -

1° Etude histologique

a) Cicatrisation, activation et dédifférenciation des cellules épidermiques -

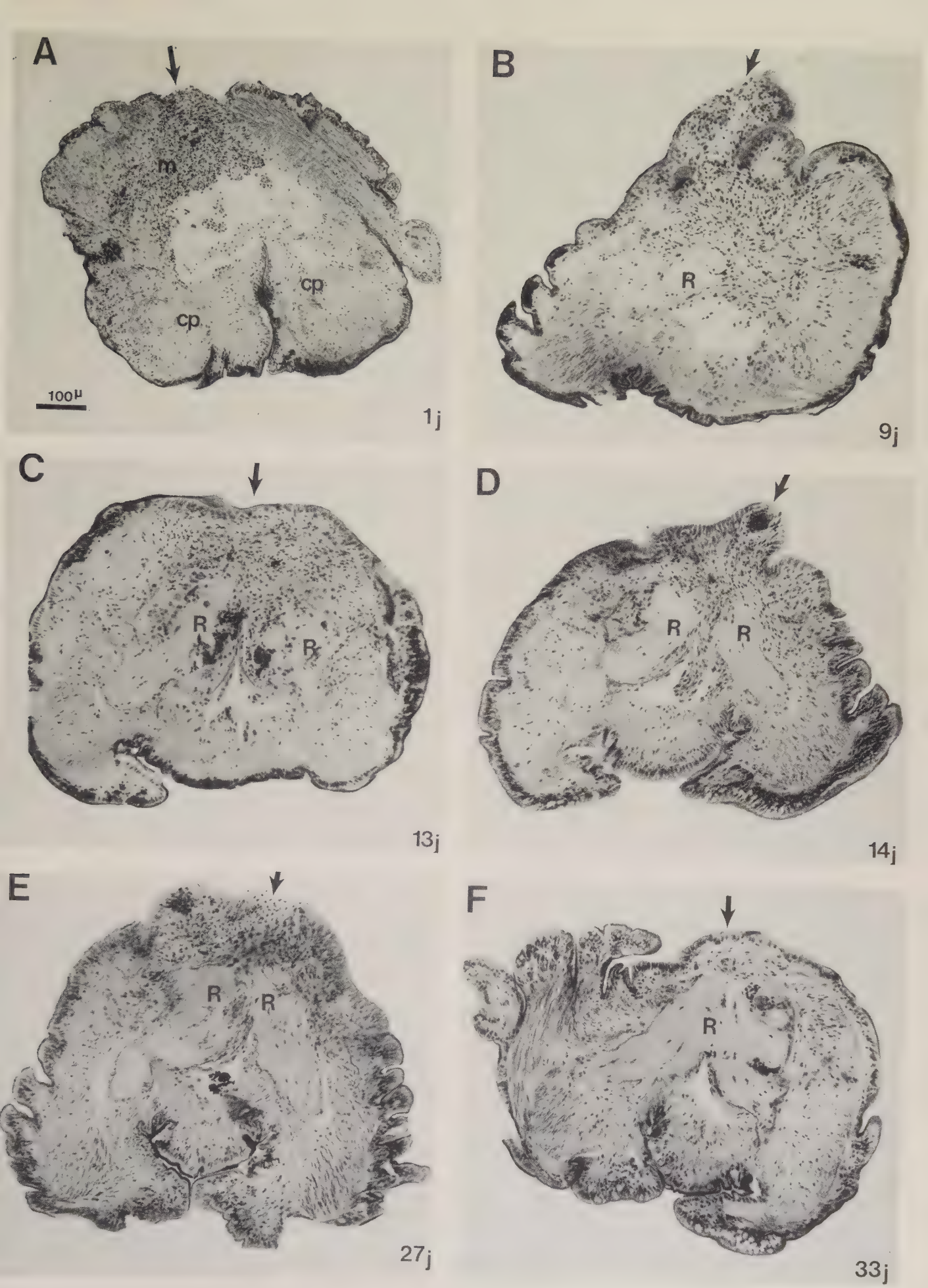
Nous avons sacrifié des animaux : 4^h, 7^h, et 24^h après l'ablation du cérébroïde par la face dorsale du protomium. Dès la 4me heure on constate que la cavité laissée libre par la résection du ganglion est partiellement envahie par de très nombreuses cellules mésodermiques de petite taille, aux contours cellulaires incertains , au noyau très colorable. Ces cellules s'agglomèrent en une masse compacte au niveau de la lésion de l'épiderme et des couches musculaires sous-jacentes. Au bout de 24 heures, au plus tard, (fig. 45 A) un bouchon cicatriciel est constitué. Par place, on rencontre dans ce massif mésodermique des cœlomocytes de grande taille, souvent groupés en amas, facilement repérables par leur cytoplasme acidophile vivement coloré en jaune par l'acide picrique (fig. 46 A).

Entre 24 et 48 heures après l'intervention, un certain nombre de cellules épidermiques, au voisinage de l'incision, ont un noyau très hypertrophié pourvu d'un nucléole volumineux (2 µ environ), bien mis en évidence par les colorants basiques. Leur cytoplasme est remarquable par sa basophilie.

fig. 45 - A à F coupes transversales du prostomium en cours de régénération après ablation du cérébroïde, 1jour à 33 jours après l'intervention . x 80

c.p.: branches du collier per-oesophagien, m.: cellules mésodermiques, R : régénérat.

La ↗ indique le niveau de l'incision.


A
m
cp
cp
100μ
1j
B
R
9j
C
R
R
13j
D
R
R
14j
E
R
R
27j
F
R
33j

Le terme d' "activation" a été généralement retenu par les auteurs qui se sont intéressés à la régénération, pour désigner les phénomènes cytophysiologiques qui conduisent à cet aspect particulier des cellules ectodermiques. Il est très remarquable de constater dans toute la région intéressée par l'opération, l'absence d'activité sécrétoire des cellules spécialisées dans cette voie, de l'épiderme. Cette absence de produit de sécrétion dans toute une zone épidermique est la façon la plus commode sur une coupe, colorée par la fuchsine par exemple, de délimiter la région sur laquelle l'intervention s'est répercutée. C'est là évidemment la traduction d'un autre phénomène bien connu lié à la régénération et désigné par le terme de "dédifférenciation".

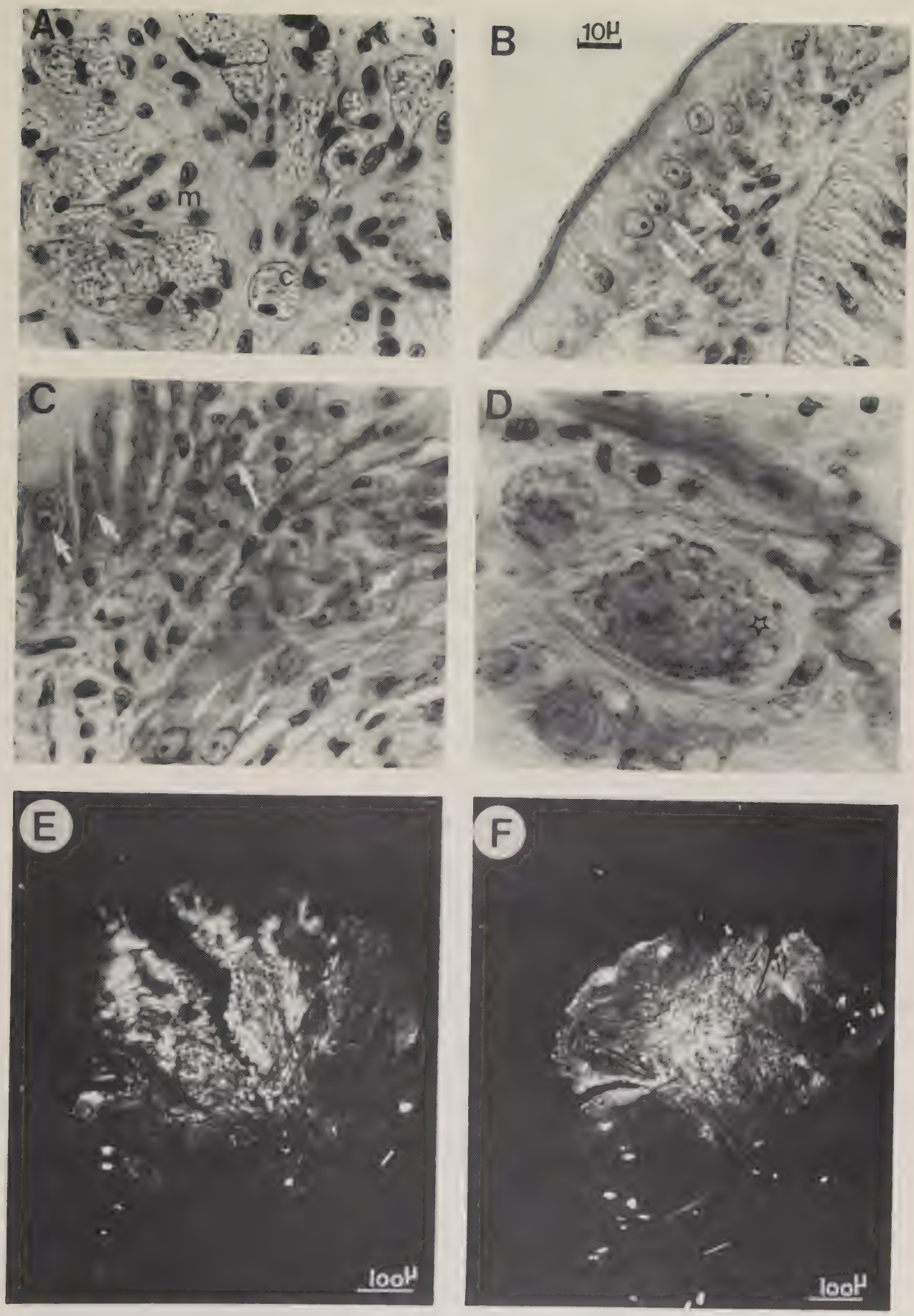
b) Migration des cellules ectodermiques dédifférenciées et activées, et croissance des fibres du collier péri-oesophagien.

Dès le 3me jour après l'ablation du cérébroïde on rencontre des cellules ectodermiques activées, tout à fait identiques à celles que nous venons de décrire, qui sont légèrement enfoncées dans le massif mésodermique sous-jacent à l'épiderme lésé.

Dans les jours suivants, on retrouve des cellules de ce type en position plus profonde (fig. 46 C). Vers la fin de la première semaine après l'intervention, on trouve généralement, sous le bouchon cicatriciel, un fragment de lame neurale entourant quelques cellules d'origine ectodermique.

Pendant que se déroulent ces phénomènes, les deux branches du collier péri-oesophagien, qui ont été coupées plus ou moins loin de leurs émergences du cérébroïde, ont commencé à progresser vers le plan médian de la base du prostomium. Ces très importants contingents de fibres semblent s'associer entre eux et avec le petit massif de régénérat, entre le 15me et le 20me jour (fig. 45 C, D, E). Fréquemment, la partie dorsale de cette masse nerveuse, où les fibres prédominent largement, reste dépourvue de

fig. 46 - A: coupe au niveau du massif mésodermique 24h après l'intervention. x 750. m: cellules mésodermiques, c: coelomocyte.
B, C et D cellules ectodermiques activées, respectivement: 8 jours, I4 jours et 3I jours après l'intervention x 750 Les ↗ et l'✸ indiquent les cellules activées (B), en cours de migration (C) et différenciée en cellule nerveuse (D).
E et F coupes du prostomium 4 jours après l'ablation du cérébroïde (microscopie de fluorescence, technique de Falck) x 100.


A
m
c
B
10μ
C
D
E
100μ
F
100μ

neurilemme et de nouvelles cellules ectodermiques activées semblent migrer vers elle. Jusqu'à la fin du 1er mois après l'intervention, un épais massif mésodermique continue à séparer la masse nerveuse de l'épiderme, lequel tend alors à reprendre un aspect normal (fig. 45 F).

Le résultat histologiquement appréciable de l'ensemble de ce phénomène est la constitution, en un mois environ, d'un massif nerveux, surtout fibreux, certainement riche en éléments gliaux, enveloppé dans un neurilemme comparable à celui que l'on trouve chez l'animal intact. De place en place on observe des îlots de cellules qui ont généralement conservé les caractères du nucléole et du cytoplasme des éléments ectodermiques activés. Certaines de ces cellules ont les prolongements caractéristiques des neurones monopolaires habituels chez les Invertébrés (fig. 46 D).

Les ablations du cérébroïde que nous avons effectuées par la face ventrale du prostomium n'ont jamais abouti à une migration de cellules ectodermiques dans la profondeur de celui-ci. Ces cellules pourtant présentaient les caractères habituels d'une activation.

En outre les ablations totales du prostomium n'ont jamais abouti à une régénération ni du prostomium ni à fortiori du cérébroïde.

La technique de Falck que nous avons appliquée après lyophilisation, à des régénérats de 1 à 8 jours met en évidence de manière inconstante, un réseau extrêmement dense de fibres très fluorescentes, jaunes. Le maximum d'intensité de ce phénomène nous a paru se situer au 4ème jour après l'intervention (fig. 46 E et F).

Les évènements que nous venons de décrire nous sont rapidement apparus comme ne suivant pas une stricte chronologie. Il est évident que des interventions chirurgicales sur des pièces d'aussi petites dimensions sont incontrôlables dans certains de leurs aspects. Il est impossible par exemple de contrôler le niveau exact où sont sectionnées les branches du collier périoesophagien, et encore moins des différents nerfs issus du cérébroïde, dont les dimensions sont à la limite de ce qui est visible avec les meilleures

fig. 47 - cellules épidermiques activées A x 6000, B x I6000.
cu: cuticule, cy, cytolysome, n : nucleus.
les ↗ indiquent les paquets de tonofilaments

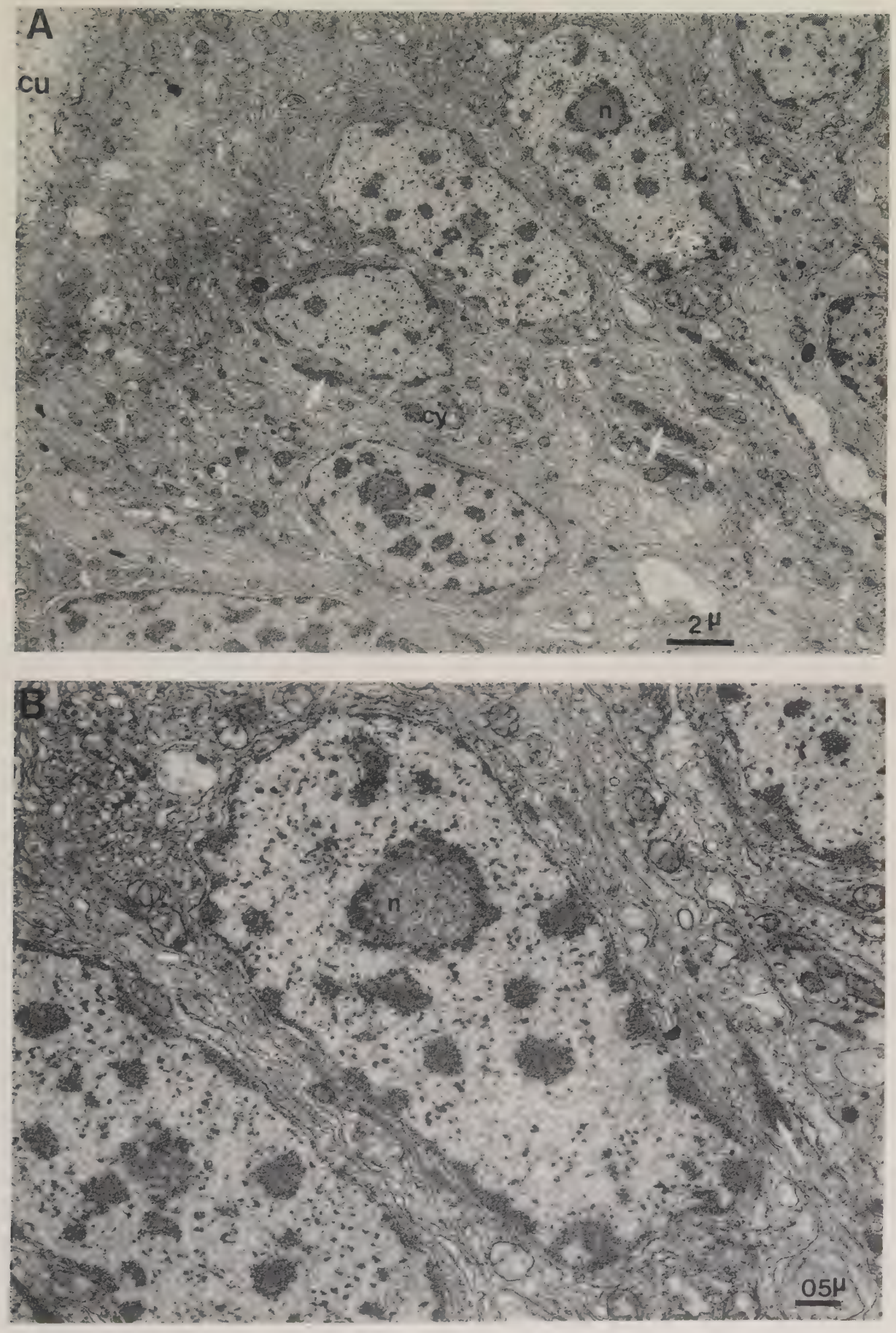
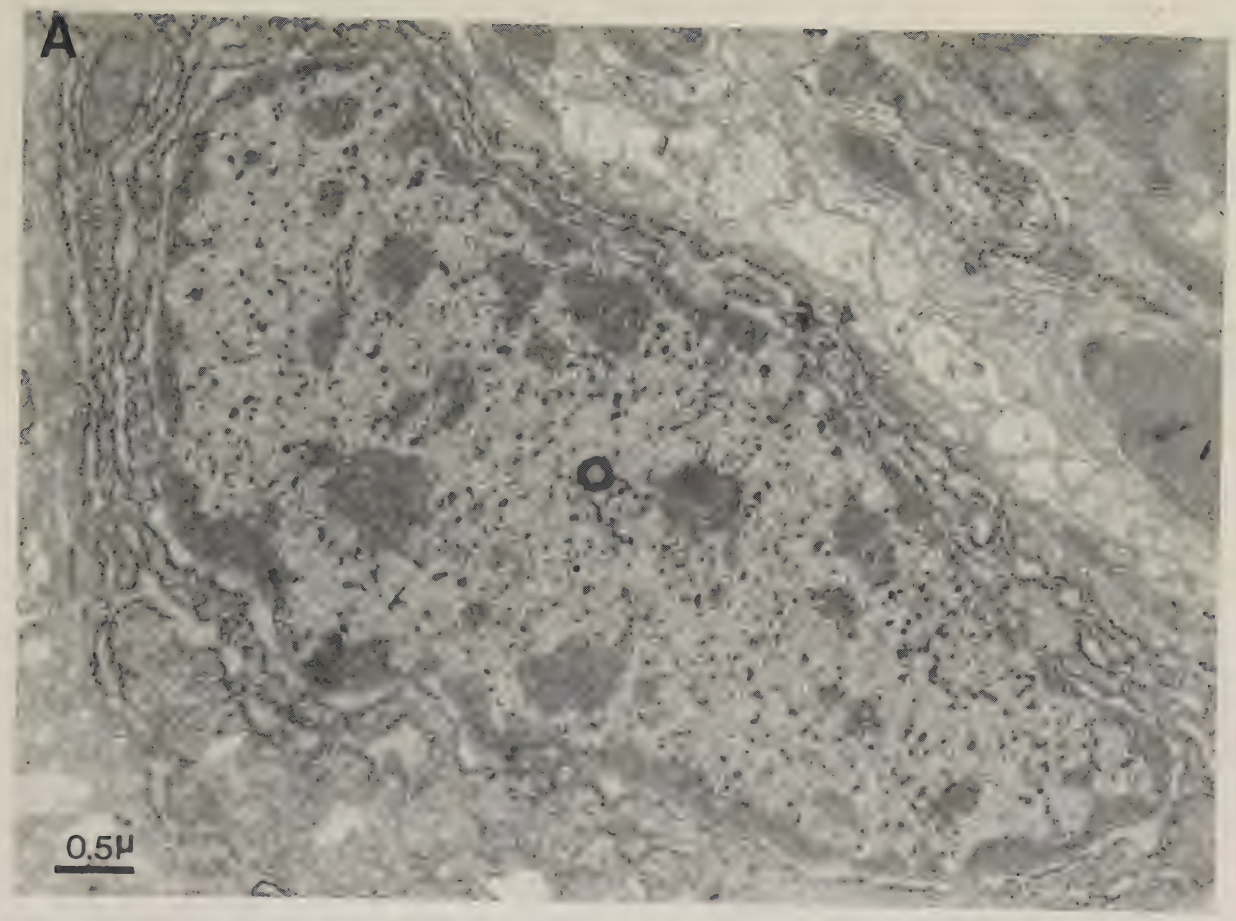
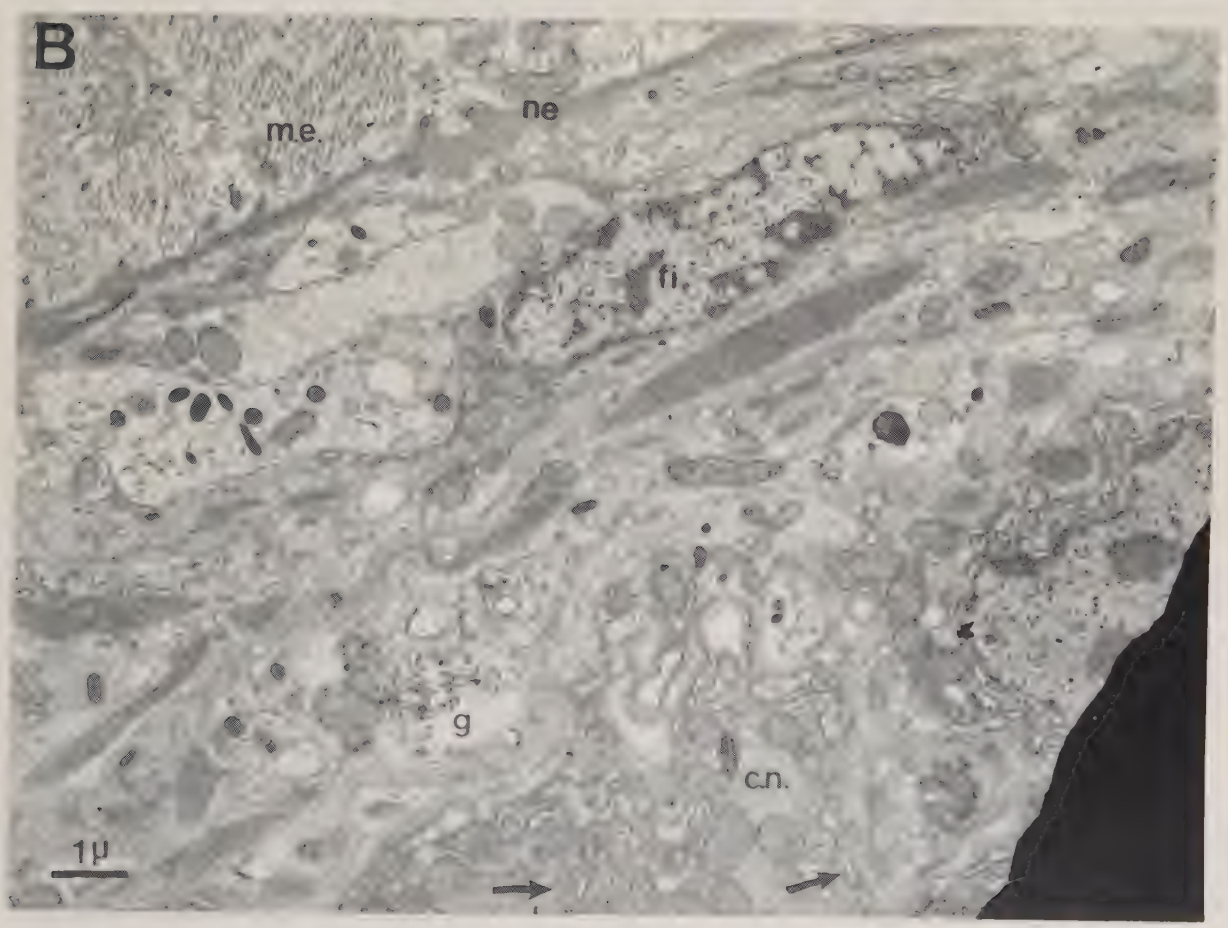

A
cu
n
cy
2μ
B
n
05μ

fig. 48- A: cellule épidermique dédifférenciée en cours de migration; x 20.000 ; II jours de régénération

B: coupe au niveau d'un régénérat du cérébroïde x IO.000 ; II jours de régénération

c.n.: cellule ectodermique différenciée en cellule nerveuse, fi.: cellule à allure de fibroblaste, g: cellule gliale, m.e.: cellule musculaire épineurale,ne.: lamelle neurale néoformée.


A
0.5μ


B
m.e.
ne
fi
g
c.n.
1μ

loupes. De même, et les contrôles histologiques permettent de le vérifier, la dimension de l'incision est très variable microscopiquement. Enfin l'impossibilité où nous nous sommes trouvés de réaliser des points de suture durables conduit à des conditions de cicatrisation très variables.

Le seul élément dont nous avons pu nous assurer, après de nombreuses vérifications histologiques, des pièces réséquées, est que l'ablation du cérébroïde était totale, après une certaine expérience acquise.

2° Etude ultrastructurale

Nous avons surtout recherché en microscopie électronique les cellules ectodermiques activées, dans leurs différentes positions : en place dans l'épiderme, en cours de migration, enveloppées dans le neurilemme néoformé.

La figure 47 (A et B) fournit un bon exemple de cellule épidermique activée. Les cytolysomes et les faisceaux fibrillaires présents dans le cytoplasme évoquent les remaniements profonds que connaissent ces cellules. De même le remarquable développement de l'ergastoplasme est sans doute significatif de l'importance des synthèses protéiques qui s'effectuent à leur niveau. Le nucléole chez l'une d'entre elles au moins présente l'aspect particulier à cet état d'activation, par sa grande dimension et la répartition périphérique de sa composante granulaire (fig. 47 B).

C'est très vraisemblablement une cellule de même type, mais que nous avons trouvé profondément enfoncée dans l'épaisseur du prostomium, qui est représentée sur la figure 48 A. Dans le cytoplasme, de dimension restreinte, on remarque le développement exceptionnel de l'ergastoplasme. C'est une cellule tout à fait comparable à une de celles fréquemment rencontrées en microscopie optique, et dont la fig. 46 C fournit quelques exemples.

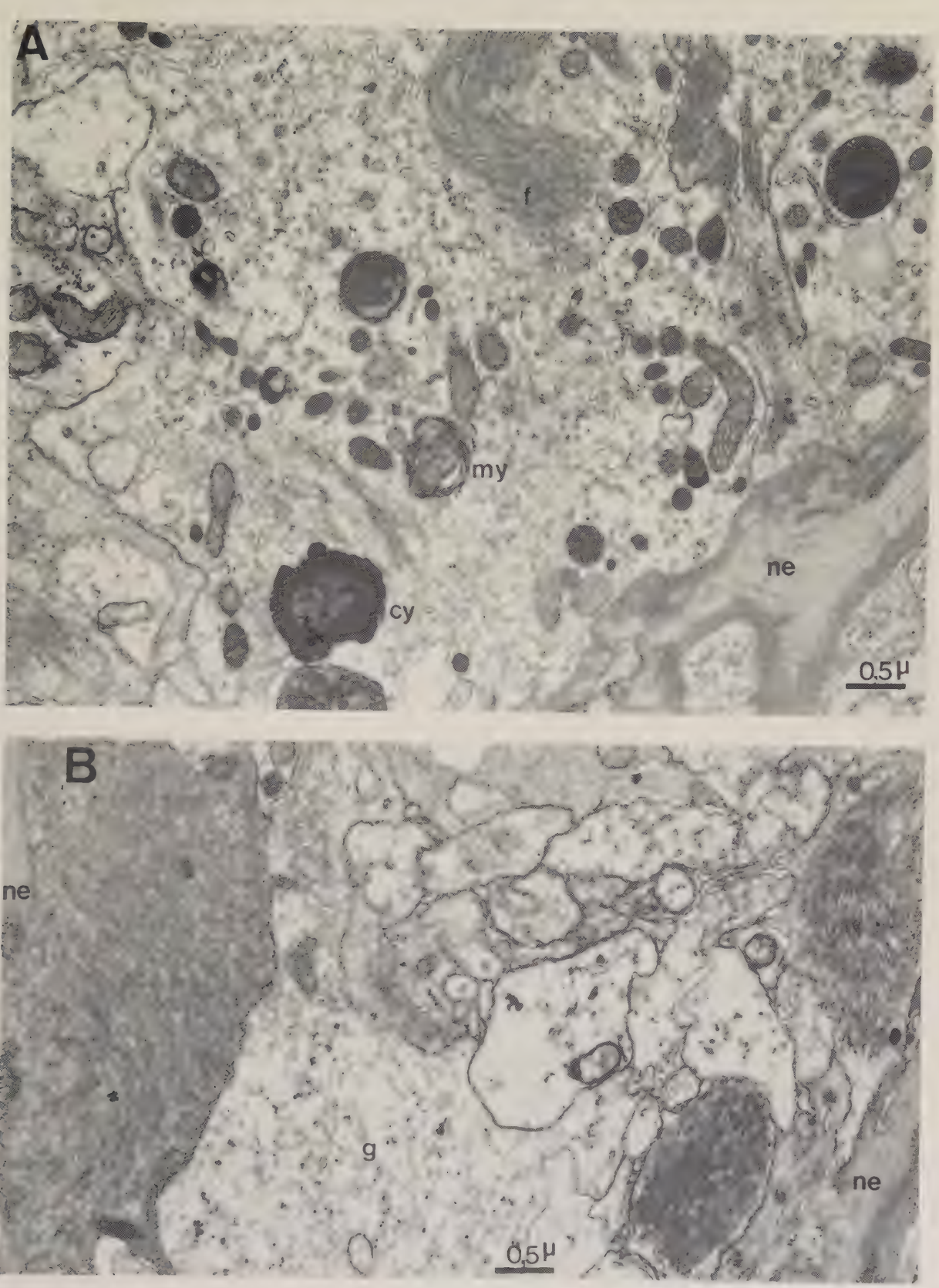
La figure 48 B représente un fragment de régénérat enveloppé par le neurilemme. Cette image prise après 11 jours de régénération permet d'observer une cellule à allure de fibroblaste tout à fait comparable à celui de la figure 20 A, prise chez un animal normal.

fig. 49 - coupes au niveau du régénérat du cérébroïde II jours après l'ablation de cet organe.

A : coupe au niveau d'une cellule de type névroglique x 20.000

B : coupe au niveau d'une structure neuropilaire et de cellules gliales x 20.000.

cy: cytolysome, f: filaments gliaux, g : cellule gliale, my: inclusion myéloïde, ne: lamelle neurale néoformée.


A
f
my
cy
ne
0.5μ
B
ne
g
ne
0.5μ

A proximité nous trouvons les différents éléments habituels de la gaine, avec une lamelle neurale externe au contact de la musculature épineurale. Des éléments gliaux,avec leurs formations caractéristiques granulaires et fibrillaires décrites précédemment,enveloppent une cellule tout à fait comparable à celle que nous venons de décrire et qui est représentée sur la figure 48 A. On retrouve dans son cytoplasme les importantes formations ergastoplasmiques caractéristiques.

Dans d'autres régions du même régénérat nous pouvons observer, dans une cellule vraisemblablement de nature gliale (fig. 49 A), des structures d'allure myélinique et de volumineux cytolysomes ; cependant que le neurilemme avoisinant renferme d'abondantes fibres à allure de collagène.

Nous n'avons pas trouvé au niveau du neuropile dans les régénérats du cérébroïde que nous avons examinés, des images de synapses caractéristiques. Cependant, on rencontre fréquemment des fibres plus ou moins étroitement associées, et qui comportent quelques vésicules de différents types (fig. 49 B).

3° Etude biochimique

L'évolution du taux de choline-acétyl-transférase (ChAc) a été choisi comme critère biochimique de la réalité d'une différenciation de cellules épidermiques en cellules nerveuses. Notre choix a été guidé par la richesse du cérébroïde en acétylcholine et la finesse des techniques de dosage radiochimique dont nous disposons. La fig. 50 ci-après rassemble sous forme d'un histogramme les résultats que nous avons obtenus. L'origine des ordonnées correspond à la teneur en ChAc d'un prostomium auquel vient d'être retiré le cérébroïde. Les valeurs indiquées en ordonnée sont exprimés en % de la valeur moyenne en ChAc d'un prostomium intact. Pour permettre d'apprécier en valeur absolue les taux de ChAc présents dans les échantillons témoins, nous indiquerons à titre d'exemple, que dans une expérience nous avions une activité enzymatique moyenne de 0,55µmol/h/g pour un prostomium intact, et de 0,23µmol/h/g pour un prostomium privé de cérébroïde. Par

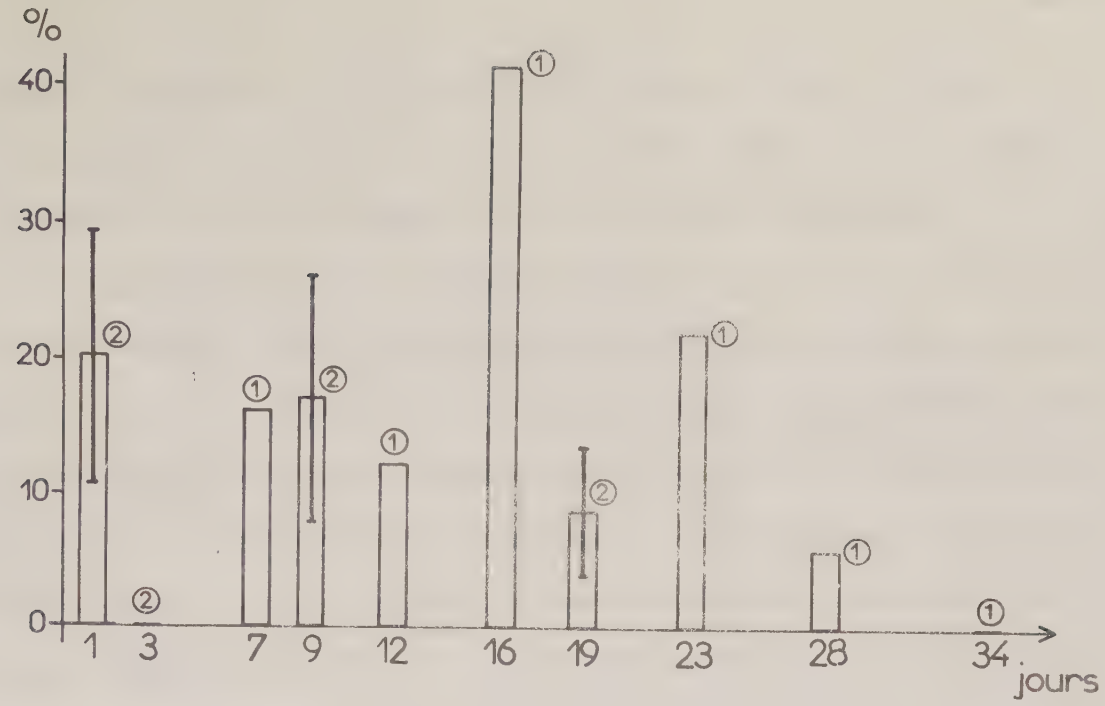


fig.50 - Evolution du taux de choline-acétyl-transférase dans le prostomium au cours de la régénération du cérébroïde.

en ordonnée: % d'activité en ChAc par rapport au témoin
en abcisse: temps en jours après l'ablation du cérébroïde
le chiffre encadré indique le nombre de dosages.

---

différence nous admettrons qu'un cérébroïde a une activité enzymatique en ChAc moyenne de 0,32µmol/h/g, et c'est en pourcentage de cette valeur que nous exprimerons le taux de récupération des animaux opérés aux différents temps de l'expérience.

Nous pouvons ainsi constater que dans les 24 heures suivant l'opération, les prostomiums retrouvent une activité enzymatique voisine de 20 % de celle des témoins intacts. Au 3me jour l'activité enzymatique est nulle par rapport à ces mêmes témoins, c'est-à-dire immédiatement avant le dosage. Entre le 7me et le 20me jour nous avons des activités qui oscillent entre 6 et 42 % des témoins. Compte-tenu du petit nombre de dosages effectués et de la variabilité constatée sur les résultats que nous avons pu reproduire (cf 1, 9 et 19 jours), il nous semble raisonnable de ne pas interpréter les oscillations de ces valeurs dans la période 7-28 jours, mais plutôt de considérer que dans cette même période nous trouvons des valeurs

supérieures en moyenne à 17 % de celles des témoins. Au-delà du 28me jour il semble bien qu'il y ait un arrêt de l'activité enzymatique des animaux en expérience, pour ce qui concerne la choline-acétyl-transférase.

L'interprétation de l'accroissement rapide de cette activité au cours des premières 24 heures et la chute brusque de cette même activité au bout de 3 jours, (accroissement et chute que nous avons vérifiés à travers deux expériences), nous paraît pouvoir être la suivante : l'intervention chirurgicale active, dans les premières heures qui lui succèdent, les processus de synthèse protéique dans les neurones cholinergiques qui subsistent au niveau des appareils sensoriels, et des terminaisons restées en place après l'ablation. Au cours des 48 heures suivantes, ces formations privées de leurs connections dégénèrent, d'où l'écoulement constaté de l'activité enzymatique. Entre le 3me et le 7me jour un certain nombre de cellules activées s'engagent dans la voie des synthèses protéiques parmi lesquelles celles de l'enzyme de synthèse de l'ACh. Peut-être que la croissance de fibres provenant des corps cellulaires situés dans le ganglion sous-oesophagien, apportent par le flux axonal des quantités notables de cette même enzyme. Nous ne pouvons évidemment pas expliquer ces résultats expérimentaux en toute sécurité, mais c'est là, semble-t-il une interprétation plausible de ce que nous avons observé.

D - DISCUSSION

Nous n'avons pas trouvé dans la littérature d'exemple de régénération du cérébroïde, chez les Polychètes, après ablation de cet organe. Pourtant divers auteurs (Durchon 1952 - Hauenschild 1960 - Clark et Ruston 1963) ont pratiqué de nombreuses résections du ganglion sus-oesophagien, surtout chez les Nereidae, pour étudier l'influence de l'hormone cérébrale sur l'évolution des gamètes. Jamais il n'a été signalé de régénération dans le cas particulier d'une ablation élective de l'organe.

La diversité qu'offrent à bien des points de vue les Polychètes est bien connue, et nous ne nous étonnerons pas outre mesure que dans ce cas

nous ayons des réponses différentes de l'organisme selon les familles auxquelles on s'adresse. Signalons, sans en tirer de conclusions, que la situation anatomique du cérébroïde diffère entre Nereidae et Glyceridae par son enfoncement dans la profondeur du prostomium, beaucoup plus important chez ces derniers. L'épaisse couche musculaire qui sépare chez les Glyceridae le cérébroïde de l'épiderme, joue peut-être un rôle décisif dans les processus d'activation, de dédifférenciation et de migration des cellules épidermiques qui se transforment en neuroblastes. Par contre les expériences que nous avons effectuées, d'ablation totale du prostomium ou d'ablation élective du cérébroïde par la face ventrale n'ont jamais abouti à une quelconque régénération des parties amputées.

La régénération de la totalité du prostomium et du cérébroïde qu'il contient, est par contre obtenue chez différentes espèces, après ablation de la totalité de la partie antérieure du corps. Nous en avons cité dans l'introduction de ce chapitre, différents exemples chez les Polychètes, Errantes et Sédentaires. Les différents auteurs qui depuis une quinzaine d'années se sont intéressé à la régénération céphalique s'accordent semble-t-il sur deux points. Les cellules nerveuses du régénérat proviennent des cellules de l'épiderme ancien ; le principe de la spécificité histogénétique de l'ectoderme est ici vérifié. D'autre part le rôle du système nerveux dans l'activation de ces cellules épidermiques est généralement considéré comme essentiel.

Ajoutons que dès 1965 chez les Oligochètes, Herlant-Mewis et Deligne travaillant sur Eisenia foetida considéraient nécessaire que les fibres nerveuses pénètrent à l'intérieur de l'épiderme blessé, pour initier l'activation des cellules de celui-ci.

Ce qui demeure très discuté c'est la nature du message chimique qu'apportent les fibres nerveuses au lieu de l'intervention. Singer et coll. (1960) ont proposé de considérer l'acétylcholine comme la substance "neurotrophique" intervenant dans la régénération des membres d'Amphibiens.

Chapron (1972) a suggéré que la dopa et la dopamine seraient, chez les Oligochètes, les substances actives. Dans cette hypothèse l'auteur imagine une étape intermédiaire au cours de laquelle ces catécholamines agiraient sur les coelomocytes présents au niveau du blastème, lesquels libéreraient à leur tour des substances actives sur les blastocytes.

Ces hypothèses sont sans doute ingénieuses, mais des preuves expérimentales font encore défaut. Il est possible que des recherches sur des substances comparables par exemple au "nervous growth factor" des Vertébrés, puissent apporter sinon des réponses décisives, du moins permettre des approches fructueuses.

De ce que nous avons observé en microscopie de fluorescence par la technique de Falck sur des stades précoces de régénération chez G. convoluta, nous nous garderons bien de tirer argument à l'appui de la thèse de Chapron. L'expérience que nous avons pu acquérir de cette technique chez les Annélides nous rend prudent sur l'interprétation hâtive d'une couleur de fluorescence. Nous ajouterons cependant que les images publiées par Katzman et coll. (1971) de la "substantia nigra" du rat après lésion électrolytique, sont troublantes par la similitude qu'elles présentent avec les nôtres. Dans ce cas les auteurs, après étude en microspectrofluorimétrie, n'hésitent pas à rapporter à des catécholamines les substances fluorescentes.

E - CONCLUSION -

Nous avons découvert, de façon fortuite, certaines possibilités de régénération du ganglion cérébroïde chez G. convoluta, après ablation élective de cet organe. Seule la face dorsale du prostomium nous a paru être susceptible de fournir des cellules épidermiques qui, après leur dédifférenciation, pouvaient se différencier en cellules nerveuses. Ces potentialités conservées chez l'adulte, de transformation en éléments nerveux de l'épiderme dorsal du prostomium nous semblent être, dans ces conditions opératoires, un fait nouveau chez les Annélides Polychètes. Cette transformation des cellules épidermiques a été suivie en microscopie optique et au niveau ultrastructural.

La masse nerveuse constituant le régénérat comporte une composante fibreuse et une composante gliale certainement importantes. Il paraît évident que l'essentiel de ces deux composantes résulte de la croissance, après amputation du cérébroïde, des deux moignons du collier périoesophagien.

Les mesures de l'activité enzymatique de la choline-acétyl-transférase que nous avons effectuées à différents stades du processus régénératif nous paraissent significatives de la réalité, entre le 7me et le 28me jour après l'ablation, du développement de cellules nerveuses.

L'apparition, dans la première semaine qui suit l'intervention, d'un réseau dense de fibres fluorescentes, après traitement par la technique de Falck, ne peut à notre avis, être interprétée comme résultant de la croissance, dans la région lésée, de fibres adrénergiques, sans contrôle biochimique et pharmacologique du matériel fluorescent.

Cette étude d'un phénomène de régénération d'éléments nerveux chez une Annélide Polychètes est, nous en sommes conscients, encore très incomplète. Nous pensons cependant qu'il était intéressant d'attirer l'attention sur un matériel qui est sans doute susceptible d'offrir un modèle pour des recherches axées sur les problèmes de différenciation cellulaire.

CONCLUSION GENERALE

Au terme de ce travail, nous pouvons considérer qu'un certain nombre de faits ont été établis, et que les uns soulignent, l'originalité des Glyceridae, cependant que d'autres permettent de retrouver ici ce que l'on soupçonnait comme étant commun aux Polychètes ou aux Annélides.

ETUDE MORPHOLOGIQUE

L'étude en microscopie optique, par une technique argentique sur coupes sériées, a permis d'établir avec une bonne exactitude la cartographie des nucleus, commissures et tractus du ganglion cérébroïde de G. convoluta.

L'absence de corpora pedunculata, qui n'est pas un caractère particulier aux Glyceridae, retentit sur l'architectonie du cérébroïde, dans lequel nous avons pu établir la présence de 17 nucleus. Pour un certain nombre de ceux-ci la relation, avec les nerfs allant aux organes sensoriels, avec les 3 commissures et les branches du collier péri-oesophagien, ne fait pas de doute. Un ensemble de 8 neurones géants, en position constante dans le cérébroïde a été décrit; leurs axones ont été retrouvés dans la chaîne nerveuse ventrale. La réduction des appareils sensoriels prostomiaux, remarquable chez les Glyceridae, est, évidemment, le deuxième grand fait qui marque l'originalité de la structure du ganglion cérébroïde.

L'appareil sacculaire signalé chez l'espèce américaine G. dibranchiata a été retrouvé chez deux espèces européennes, et il semble bien être commun au genre Glycera.

Dans les structures prostomiales décrites précédemment comme purement sensorielles, nous avons mis en évidence une fonction sécrétoire exocrine qui en modifie l'interprétation. Nous avons précisé la morphologie des récepteurs avoisinant ces amas de cellules sécrétrices.

Une rapide étude de la chaîne nerveuse ventrale a permis notamment de préciser la disposition des 8 axones géants qui la parcourent, dont

nous avons retrouvé la trace au niveau du ganglion sous-oesophagien et qui appartiennent sans doute aux neurones, également géants, du cérébroïde.

L'ensemble de ces observations permet de mettre sérieusement en doute l'existence d'un plan structural et fonctionnel, commun à toutes les Annélides Polychètes.

A partir des informations morphologiques sur le cérébroïde que nous avons pu rassembler, et en tenant compte de ce que l'on sait par ailleurs sur d'autres formations, il nous paraît que beaucoup d'arguments sont maintenant réunis pour rapprocher dans la systématique les Glyceridae des Nephthydae, au sein du groupe des Phyllodocida.

Nous avons également, à l'aide de la microscopie photonique et de la microscopie électronique, effectué une étude cytologique des différents éléments constitutifs du cérébroïde de G. convoluta. Nous avons retrouvé au niveau de la capsule enveloppante ses composantes habituelles : neurilemme et périlemme, ainsi que les relations étroites existant entre cette capsule et la musculature épineurale. Cet ensemble nous est apparu comme jouant un rôle essentiel dans la physiologie de l'organe. C'est à son niveau que se déroulent obligatoirement les échanges nécessaires au métabolisme du cérébroïde, qui est comme on le sait, dépourvu d'irrigation sanguine; échanges sans doute facilités par les mouvements que permet cette musculature épineurale.

Au niveau de la glie proprement dite, 3 éléments ont particulièrement retenu notre attention : les filaments gliaux, les granules et les desmosomes d'un type qui semble assez particulier aux Annélides Polychètes et qui assurent les relations entre cellules gliales. L'importance du rôle joué par la glie dans la physiologie des neurones a été confirmée.

L'étude des types cellulaires neuronaux nous a permis de découvrir au niveau du nucleus I l'existence de cellules, dont le cytoplasme est plus ou moins complètement envahi par des replis membraneux parallèles les uns aux autres, et en continuité avec la membrane ergastoplasmique. Nous avons

considéré ces curieux organes comme probablement dévolus à une fonction photoréceptrice. Ils constitueraient, si cette fonction pouvait être vérifiée, un type original d'organes de ce genre.

Parmi les cellules nerveuses non sensorielles nous avons reconnu l'existence :

- d'une population de neurones correspondant au type V décrit chez les Nereidae.

- d'un ensemble de petites cellules constituant le nucleus II, qui peuvent être rapprochées de celles décrites parmi les cellules des corpora pendonculata des Nereidae.

- enfin de 3 types de cellules neurosécrétrices très comparables à celles également décrites chez les Nereidae.

La fonction neurosécrétrice du cérébroïde a été confirmée par la découverte d'un complexe neuro-hémal, voisin de ceux déjà décrits chez les Nereidae et les Nephthydae.

ETUDE BIOCHIMIQUE -

L'hypothèse d'une médiation cholinergique au niveau du système nerveux central de G. convoluta a été étayée par les faits suivants :

- l'acétylcholine et ses enzymes de synthèse et de dégradation ont été dosées dans le tissu nerveux, et des taux d'ACh comparables à ceux de l'organe électrique de Torpille ont été trouvés.

- la synthèse de l'acétylcholine à partir d'acétate, de glucose et de choline marquée, a été contrôlée.

- la cholinestérase a été mise en évidence histochimiquement, dans le tissu glial essentiellement.

- la microscopie électronique a permis d'observer des fibres et des terminaisons d'allure cholinergique dans le neuropile du cérébroïde.

La rareté des travaux consacrés jusqu'ici à ce problème chez les Polychètes, ne permet pas d'étendre à l'ensemble du sous-embranchement,

l'hypothèse d'une médiation cholinergique qui semble faire peu de doute chez les Hirudinées.

La possibilité d'une médiation adrénergique a également été envisagée et des résultats positifs ont été obtenus, à la fois sur le plan morphologique et biochimique.

Des quantités notables de catécholamines et de sérotonine ont été dosées dans la chaîne nerveuse ventrale, et dans le cérébroïde. La synthèse de noradrénaline et de dopamine a pu être suivie, ainsi que le stockage des mêmes substances, par l'utilisation d'un précurseur marqué. Une rapide étude chromatographique semble indiquer que les voies métaboliques sont voisines de celles connues chez les Vertébrés.

La technique de fluorescence de Falck, sur du matériel préalablement lyophilisé a permis d'observer des corps cellulaires et des fibres fluorescentes jaunes et vertes, après exposition aux vapeurs de paraformaldéhyde; fluorescence fortement atténuée par la réserpine.

Des images de fibres du neuropile montrent, en microscopie électronique, l'existence d'une population de vésicules à grain dense dont l'aspect et la dimension sont ceux que l'on attribue généralement aux fibres adrénergiques.

Compte tenu de ce qui a été déjà observé chez d'autres Polychètes, chez les Hirudinées et les Oligochètes, la possibilité d'une médiation adrénergique chez les Annélides se trouve renforcée par le présent travail.

Des expériences d'ablation élective du cérébroïde ont montré la possibilité d'une relative régénération de cet organe, à partir des éléments cellulaires de l'épiderme dorsal du prostomium, et des branches du collier péri-oesophagien. Une étude en microscopie optique a permis de suivre la chronologie et les limites de cette régénération. Le dosage de la choline-acétyl-transférase des régénérats à différents stades, a permis de s'assurer de la réalité des transformations de cellules épidermiques en cellules à

potentialités nerveuses. La microscopie électronique a fourni des images caractéristiques de cellules épidermiques activées : en place dans l'épiderme, en cours de migration, et enfin enveloppées par une capsule de même allure que celle qui entoure le cérébroïde chez l'animal intact.

Cette série d'observations confirme que chez les Annélides les cellules épidermiques conservent chez l'animal adulte la capacité de retourner à un état indifférencié, pour se transformer ensuite en neuroblastes. Le rôle trophique du système nerveux, souvent invoqué ailleurs, nous semble ici évident, sans que pour autant on puisse attribuer à telle ou telle substance un rôle inducteur.

B I B L I O G R A P H I E

1 ABRAHAMS V.C. and EDERY H., 1964 - Brain stem electrical activity and the release of acetylcholine. In : Progress in Brain Research, 6 , W. Bargmann and J.P. Schadé Ed(Elsevier, Amsterdam) 26-36.

2 ÅKESSON B., 1968 - The ontogeny of the glycerid Prostomium (Annelida, Polychaeta) , Acta Zool., Bd XLIX , 203-217.

3 ALVAREZ M.D.C., DEL CASTILLO J. and SANCHEZ V., 1969 - Pharmacological responses of the dorsal longitudinal muscle of Sabellastarte magnifica. Comp. Biochem. Physiol., 29, 931-942.

4 ANDERSON D.T., 1959 - The embryology of the polychaeta Scoloplos armiger. Quart. J. Micros. Sci., 100, 89-166.

5 AOTO T., 1965 - On the possible participation of the nauplius-eye in chromatophoral regulation in the adult prawn Palaemon paucidens. J. Fac. Sci., Hokkaido Univ., Ser. VI Zool. 15, 652-661.

6 AVEL M., 1932 - Sur une expérience permettant d'obtenir la régénération de la tête en l'absence certaine de la chaine nerveuse ventrale ancienne chez les Lombriciens. C.R. Acad. Sci. Paris, 194, 2166-2168.

7 AVEL M., 1947 - Les facteurs de la régénération chez les Annélides. Rev. Suiss. Zool., 54, 219-235.

8 AVEL M., 1961 - L'influence du système nerveux sur la régénération chez les Urodèles et les Oligochètes. Bull. Soc. Zool. France, 86 464-483.

9 BACCETTI B., 1967 - The problem of the epineural muscle structure in invertebrates. Monit. Zool. Ital., 1 , 23-35.

10 BACQ Z.M., 1935 - Recherches sur la physiologie et la pharmacologie du système nerveux autonome ; XVII, Les Esters de la choline dans les extraits de tissus des Invertébrés, Arch. int. Physiol., 42, 24-42.

11 BACQ Z.M., 1936 - Démonstrations sur l'acétylcholine et la choline estérase chez les Invertébrés. Ann. Physiol., 12, 661.

12 BACQ Z.M., 1937 - Nouvelles observations sur l'acétylcholine et la choline estérase chez les Invertébrés. Arch. int. Physiol., 44, 174-189.

13 BANTZ M. et MICHEL C., 1972 - Les cellules sensorielles des papilles de la trompe chez Glycera convoluta K. (Annélide Polychète). Z.Zellforsch, 134, 351-366.

14 BASKIN D.G., 1971 a - The supporting role of neuroglia in Nereis (Annelida Polychaeta). Anat. Rec., 169, 273-274.

15 BASKIN D,G., 1971 b - Fine structure, functional organization and supportive role of neuroglia in Nereis. Tissue and Cell, 3, 579-588.

16 BASKIN D.G., 1971 c - The fine structure of neuroglia in the central nervous system of Nereid polychaeta . Z. Zellforsch, 119 295-308.

17 BEAUCHAMP P. de, 1909 - Recherches sur les Rotifères : les formations tégumentaires et l'appareil digestif. Arch. Zool. Exp. Gen. (Ser. 4), 10, 1-410.

18 BENHAM W.G., 1894 - On the classification of the Polychaeta. Rep. Brit. Ass. Oxford, 696.

19 BENHAM W.G., 1896 - Polychaeta. In : Cambridge Natural History 2. Lond. Macmillan.

20 BERJON J.J. et MEUNIER J.M., 1968 - Contribution à l'étude des caractères cytophysiologiques des ganglions cérébroïdes d'Eisenia foetida examinés dans diverses conditions expérimentales. Annales d'Endocrino., 29, 433-447.

21 BERN H.A., 1967 - On eyes that may not see and glands that may not secrete. Ann. Zool., 7, 815-822.

22 BERTLER A., 1961 - Effect of reserpine on storage of catecholamines in brain and other tissues. Acta Physiol.Scand., 51, 75-83.

23 BIANCHI S., 1967 - The amine secreting neurons in the central nervous system of the earthworm (Octolasium complanatum) and their possible neurosecretory role. Gen. comp. Endocrinol., USA 9 , 343-348.

24 BIANCHI S., 1969 - Sur la signification des neurones fluorescents chez la sangsue Hirudo medicinalis. Ann. Endocr. (Paris), 30, 545-548.

25 BIEDL A., 1912 - Über des Adrenalgewebe bei Wirbellosen. In : Verhandl. Intern. Zool. Kongr. 8th Graz-Jena. Fischer 503-505.

26 BINARD A. et JEENER R., 1928 - Morphologie du lobe preoral des Polychetes. Rec.Inst. Torley Rousseau, 2, 117-240.

27 BISCHOFF M.B., 1969 - Photoreceptoral and secretory structures in the avian Pineal organ. J. Ultrast. Res. 28, 16-26.

28 BOBIN G. et DURCHON M., 1952 - Etude histologique du cerveau de Perinereis cultrifera Grube. Mise en évidence d'un complexe cérébro-vasculaire. Arch. Anat. Micro. Morph. Exp., 41, 25-40.

29 BOBIN G. et DURCHON M., 1953 - Sur le cerveau d'une Annélide en voie de transformation hétéronéréidienne (Perinereis cultrifera Grube) et sur le déroulement d'un phénomène neurosécréteur. Arch. Anat. Micro. Morph. Exp., 42, 112-126.

30 BOCQUET M. et DHAINAUT COURTOIS N., 1973 - Structure fine de l'organe photorécepteur des Syllidae. I- Etude chez la Souche et le stolon parvenu à maturité sexuelle. II- Développement de l'oeil sur le stolon. J. Microscopie, 18, 207-230 ; 231-246.

31 BOILLY B., 1967 - Etude histologique des premiers stades de l'histogenèse dans la régénération caudale et céphalique chez un annélide Polychète (Syllis amica). Considérations sur l'origine des cellules de régénération. Arch. Anat. Microsc. et Morph. Exp., 56, 167-204.

32 BOILLY B., 1968 - Origine des Cellules de régénération chez Aricia foetida Clap. (Annélide Polychète). Arch. Anat. Micro. & Morphol. Exp., 57, 297-308.

33 BOILLY-MARER Y., 1972 - Etude ultrastructurale des cirres parapodiaux des Nereidiens atoques (Annélides-Polychètes). Z. Zellforsch, 131, 309-327.

34 BULLOCK T.H., 1953 - Properties of some natural and quasi-artificial synapses in Polychaetes. J. comp. Neurol., 98, 37-68.

35 BULLOCK T.H. et HORRIDGE G.A., 1965 - Structure and function in the nervous systems of Invertebrates. 2 Vol. Freeman and Co,San Francisco.

36 BURFIELD S.T., 1927 - Sagitta. L.M.B.C., Mémoires, 28, 1-96.

37 CAUNA N., NAIK N.T., LEAMING D.B. and ALBERTI P., 1961 - The distribution of cholinesterases in the autonomic ganglia of man and of some mammals. Bibliotheca Anat., 2, 90-96.

38 CHANG H.C. and GADDUM J.H., 1933 - Choline esters in tissue extracts. J. Physiol., 79, 255.

39 CHAPRON C., 1969 - Phénomènes de dédifférenciation au cours de la régénération céphalique chez le Lombricien Eisenia foetida unicolor . C.R. Acad. Sci. Paris, 269, 187-190.

40 CHAPRON C., 1970 a - Différenciation infrastructurale de l'épiderme et du S.N. au cours de la régénération chez le Lombricien Eisenia foetida unicolor. C.R. Acad. Sci. Paris, 270, 973-976.

41 CHAPRON C., 1970 b - Etude histologique, infrastructurale et expérimentale de la régénération céphalique chez le Lombricien Eisenia foetida unicolor (Sav). Ann. Embryo. Morpho., 3, 235-250.

42 CHAPRON C., 1972 - Recherches sur le rôle et le mode d'action des amines biogènes dans la régénération des Oligochètes. Bull. Soc. Zoo. France, 97, 327-331.

43 CHAPRON C., 1973 - Etude comparée de la nature et du mode d'action des substances neurotrophiques intervenant dans la régénération des Oligochètes et des Amphibiens. C.R. Acad. Sci. Paris, 276, 1463-1466.

44 CLARET J., 1966 - Mise en évidence du rôle photorécepteur du cerveau dans l'induction de la diapause chez Pieris brassicae (Lepido). Ann. Endocrinologie, 27, 311-320.

45 CLARK A.W., 1967 - The fine structure of the eye of the leech Helobdella stagnalis. J. Cell. Sci, 2, 341-348.

46 CLARK R.B., 1955 - The posterior lobes of the brain of Nephtys and the mucus-glands of the prostomium. Q.J. Micr. Sci., 96, 545-565.

47 CLARK R.B., 1956a - The neurosecretory system of the Polychaete Nephtys and its role in reproduction. Abst. of 20th Inter. Physiol. Congres. Bruxelles, 178.

48 CLARK M.E., 1966 - Histochemical localization of monoamines in the nervous system of the polychaeta Nephthys. Proc. of the Roy. Soc. serie B, Biol. Sc., 165, 308-325.

49 CLARK R.B., 1956 b - The eyes and the photonegative behavior of Nephthys. J. Exp. Biol., 33, 461-477.

50 CLARK R.B., 1959 - The neurosecretory system of the supra-oesophageal ganglion of Nephthys. Zool., J. Physiol. Band 68 Heft 3, S. 395-424.

51 CLARK R.B. and RUSTON, R.G.J., 1963 - The influence of brain extirpation on ovgenesis in the polychaete N. diversicolor. Gen. and Comp. Endocrinol., 3 , 529-541.

52 COGGESHALL R.E., 1965 - A fine structural analysis of the ventral nerve cord and associated sheath of Lumbricus terrestris L. J. Comp. Neur., 125, 393-438.

53 COGGESHALL R.E., 1966 - The ganglion connective junction in the central nervous system of the Leech -Hirudo medicinalis. J. of Morph. 119, 417-424.

54 COGGESHALL R.E., 1972 - Autoradiographic and chemical localization of 5 hydroxytryptamine in identified neurones in the leech. Anat. Rec., 173, 489-498.

55 COGGESHALL R.E.and FAWCETT DON W., 1964. The fine structure of the central nervous system of the leech Hirudo medicinalis. J. Neurophysiol. 27, 229-289.

56 COLHOUN E.H., 1959 - Physiological events in organophosphorus poisoning. Can. J. Biochem. Physiol., 37, 1127-1134.

57 CRAWFORD T.B.B. and YATES C.M., 1970 - A method for the estimation of the catecholamines and their metabolites in brain tissue. Brit. J. Pharmacol., 38, 56-71.

58 CRESP J., 1964 - Etudes expérimentales et histologiques sur la régénération et le bourgeonnement chez les Serpulides Hydroïdes norvegica (Gunn.) et Salmacina incrustans (Claparède). Bull. Biol. Fr et Belg.,98, 3-152.

59 DALES P.R., 1962 - The polychaeta stomodeum and the inter-relationships of the families of Polychaeta. Proc. Zool. Soc. London, 139, 289-328.

60 DEFRETIN R., 1952 - Aspects de la neurosécrétion chez Nereis irrorata (Malmgren). C.R. Acad. Sci., 235, 100-102.

61 DEFRETIN R., 1953 - Cytologie et histologie de la neurosécrétion chez les Nereidiens. XIV Int. Zool. Cong. Copenhagen, 302-303.

62 DEFRETIN R., 1955 - Recherches cytologiques et histochimiques sur le système nerveux des Nereidiens. La neurosécrétion des Polyosides et ses rapports avec l'épitoquie. Arch. Zool. Exp.et Gen., 92, 73-140.

63 DEHORNE A., 1935 - Sur le neuroplasme des fibres géantes des Polychètes Soc. Biol. Paris, C.R., 119, 1253-1256.

64 DEHORNE A., 1936 - Analyse de quelques aspects des cellules nerveuses de Nephtys et de Nereis. Soc. Biol. Paris, C.R., 121, 757-760.

65 DHAINAUT-COURTOIS N., 1964 - Données histologiques sur les phénomènes neurosécrétoires chez les Néreidiens. Extr. Mém. Soc. Sci. Nat. Math. Cherbourg (congrès de l'A.F.A.S.) paru 1966, 6° série, 51, 123-128.

66 DHAINAUT-COURTOIS N., 1965 - Sur la présence d'un organe photorécepteur dans le cerveau de Nereis pelagica L. (Annélide Polychète). C.R. Acad. Sci., 261, 1085-1088.

67 DHAINAUT-COURTOIS N., 1966 a - Le complexe cérébro-vasculaire de Nereis pelagica L . (Annélide Polychéte). Origine des cellules infracérébrales et structure de la paroi du réseau vasculaire. C.R. Soc. Biol., 160, 1232-1237.

68 DHAINAUT-COURTOIS N., 1966 b - Le complexe cérébro-vasculaire de Nereis pelagica L. (Annélide Polychète). Données histologiques et ultrastructurales. C.R. Acad. Sci. Paris, 262, 2048-2051.

69 DHAINAUT-COURTOIS N., 1966 c - Etude histologique des cellules nerveuses du cerveau de Nereis pelagica L. (Annélide Polychète). C.R. Acad. Sci. Paris, 263, 1596-1599.

70 DHAINAUT-COURTOIS N., 1967 - Etude ultrastructurale des cellules nerveuses du cerveau de Nereis pelagica L. (Annélide Polychète). C.R. Acad. Sci. Paris, 264, 2566-2569.

71 DHAINAUT-COURTOIS N., 1968 a - Etude histologique et ultrastructurale des cellules nerveuses du ganglion cérébral de Nereis pelagica L. (Annélide Polychète) Comparaison entre les types cellulaires I-VI et ceux décrits antérieurement chez les Nereidae. Gen. comp. Endocr., 11, 414-443.

72 DHAINAUT-COURTOIS N., 1968 b - Contribution à l'étude du complexe cerebro vasculaire des Néreidiens. Cycle évolutif des cellules infra-cérébrales de Nereis pelagica L. (Annélide Polychète).Etude ultrastructurale. Z. Zellforsch., 85, 466-482.

73 DHAINAUT-COURTOIS N., 1970 - Contribution à l'étude morphologique des processus sécrétoires dans le système nerveux central et au niveau de la glande infracérébrale des Nereidae (Annélides Polychètes). Thèse Sciences Lille.

74 DHAINAUT-COURTOIS N., 1972 - Etude en microscopie électronique et en fluorescence des médiateurs chimiques du système nerveux des Nereidae. (Annélides Polychètes). Z. Zellforsch., 126, 90-103.

75 DHAINAUT-COURTOIS N., CARIDROIT M. and BISERTE G., 1969 - Sur la présence de la N, N'-diméthyl-5-hydroxytryptamine (bufoténine) et de l'acide amino-butyrique dans le système nerveux d'une Annélide Polychète. C.R. Soc. Biol., 163, 1563-1567.

76 DHAINAUT-COURTOIS N., et WAREMBOURG M., 1967 - Etude des cellules sécrétrices de la chaine nerveuse de Nereis pelagica L. (Annélide Polychète). Gen. comp. Endocr., 9, 276-286.

77 DHAINAUT-COURTOIS N., et WAREMBOURG M., 1969 a - Etude ultrastructurale des neurones de la chaine nerveuse de Nereis pelagica L. (Annélide Polychète). Z. Zellforsch., 97, 260-273.

78 DHAINAUT-COURTOIS N., et WAREMBOURG M., 1969 b - Caractéristiques histochimiques des neurones du système nerveux central des Nereis (Annélides Polychètes). Z. Zellforsch., 97, 249-259.

79 DORSETT D.A. et HYDE R., 1968 - The fine structure of the lens and photoreceptors of Nereis virens. Z. Zellforsch., 85; 243-255.

80 DORSETT D.A. and HYDE R., 1969 - The fine structure of the compound sense organs on the cirri of Nereis diversicolor. Z. Zellforsch., 97, 512-527.

81 DREYFUS P., 1975 - Identification de l'acétate comme précurseur du radical acétyl de l'acétylcholine des jonctions neuro-musculaires du Rat. C.R. Acad. Sci. Paris., 280, 1893-1894.

92 DURCHON M., 1952 - Recherches expérimentales sur deux aspects de la reproduction chez les Annélides Polychètes ; l'épitoquie et la stolonisation. Ann. Sci. Nat. Zool., 14, 119-206.

93 EAKIN R.M., 1963 - Lines of evolution of photoreceptors. In : D. Mazia and A. Tyler (ed.). Gen. Physiol. of Cell Specialization , 393-425, New York : McGraw Hill. Books Co.

94 EAKIN R.M. , 1965 - Evolution of photoreceptors. Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol., 30, 363-370.

95 EAKIN R.M., 1968 - Evolution of photoreceptors. In : Evolutionary Biology Appleton-Century-Crafts, New York, 2 , 194-242.

96 EHINGER B., FALCK B. and MYRHBERG H.E., 1968 - Biogenic monoamines in Hirudo medicinalis. Histochem., 15, 140-149.

96 EHINGER B. and MYRHBERG H.E., 1972 - Neuronal localization of dopamine noradrenaline and 5-hydroxytryptamine in the central and peripheral nervous system of Lumbricus terrestris (L). Histochem. 28, 265-275.

97 EHLERS E., 1864-1868 - Die Borstenwürmer (Annelida Chaetopoda). 2 Vol., Leipzig, Engelman.

98 ELLMAN G.L., COURTNEY K.D., ANDRES V. and FEATHERSTONE R.M., 1961 - A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. Biochem. Pharmacol., 7 , 88-95.

99 ELOFSSON R., 1963 - The nauplius eye and frontal organs in Decapoda (Crustacea). Sarsia, 12, 1-68.

100 FAGE L. et LEGENDRE R., 1927 - Pêches planctoniques à la lumière effectuées à Banyuls s/mer et à Concarneau. Arch. Zool. Exp. Gen., 67, 23-222.

101 FALCK B., HILLARP N.A., THIEME G. and TORP A., 1962 - Fluorescence of catecholamines and related compounds condensed with formaldehyde. J. Histochem.,Cytochem., 10, 348-354.

102 FAWCETT DON W., 1966 - The cell.An atlas of fine structure. Saunders Co N.Y.

103 FISCHER A. et BROKELMANN J., 1966 - Das Auge von Platynereis dumerilli Sein Feinbauim entogenetischen und adaptiven Wandel. Z. Zellforsch., 71, 217-244.

104 FLEMING R.M. et CLARK W.G., 1970 - Quantitative thin-layer chromotographic estimation of labelled dopamine and norepinephrine their precursors and metabolites.J. Chromatog., 52, 305-312.

105 FLOREY E. and FLOREY E., 1965 - Cholinergic neurons in the Onychophora a comparative study. Comp. Biochem. Physiol., 15, 125-136.

106 FONNUM F., 1966 - A radiochemical method for the estimation of choline acetyltranferase. Biochem. J., 100 , 479-484.

107 FONNUM F., 1968 - Choline acetyltransferase binding to and release from membranes. Biochem. J., 109, 389-398.

108 FONNUM F., 1969 - Radiochemical micro assays for the determination of choline acetyltransferase and acetylcholinesterase activities,. Biochem. J., 115, 465-472,

109 FRIEDRICH H., 1938 - Polychaeta. In : Die Tierwelt der Nord und Ostsee Lf 32 Teil 66, Leipzig.

110 FUHNER H.,1918 - Nachweis und Bestimmung von Giften auf phamakologischen Wege, Nachweis von Physostigmin. Aberhalden's Handbuch der biologischen Arbeitsmethoden, Avt. IV,7 : 463-470.

111 GASKELL J.F., 1914 - The chromaffine system of Annelids and the relation of this system to the contractile vascular system in the leech, Hirudo medicinalis. Phil. Trans. Roy. Soc. London, Ser B, 205 153-211,

112 GER B.A., DARDYMOV J.V., LAURENTÉVA V.V. and MICHELSON M.J., 1970 - Cholinoreception of nonvisceral muscles of two polychaeta species (Lumbriconereis impatiens, Serpula vermicularis) and Sipuncula species (Physcosoma japonicum), J. Evol. Biochem, Physiol., 6, 187-197. (en russe).

113 GERSCHENFELD H.M., 1965 - Chemical transmitters in invertebrate nervous-systems. Symp. Soc. Exp. Biol., 20, 299-323.

114 GERSCHENFELD H.M., 1973 - Chemical transmission in invertebrate central nervous systems and neuromuscular junctions. Physiol. Rev., 53, 1-119.

115 GOLDING D.W., 1967 - The diversity of secretory neurones in the brain of Nereis. Z. Zellforsch., 82, 321-344.

116 GRAVIER C., 1898 - Etude du prostomium des glyceriens suivie de considérations générales sur le prostomium des Annélides Polychètes. Bull. Sc. France Belgique, 31, 159-184.

117 GRAY E.G. and GUILLERY R.W., 1963 - An electron microscopical study of the ventral nerve cord of the leech. Z. Zellforsch., 60 826-849.

118 GRAVIER CH. et DANTAN J.L., 1928 - Pêches nocturnes à la lumière dans la baie d'Alger - I Annélides Polychètes. An. Inst. Oceano., 5, 1-185.

119 GUSTAFSON G., 1930 - Anatomische Studien über die Polychäten Familien Amphinomidae und Euphrosynidae. Zol. Bidr. Uppsala, 12, 305-471.

120 HAGADORN I.R., 1958 - Neurosecretion and the brain of the rhynchobdellid leech, Theromyzon rude . J. Morph., 102, 55-90.

121 HAGADORN I.R., 1962 a - Neurosecretory phenomena in the leech, Theromyzon rude. Mem. Soc. Endocrin., 12, 313-321.

122 HAGADORN I.R., 1962 b - Functional correlate of neurosecretion in the rhynchobdellid leech, Theromyzon rude. Gen. Comp. Endocrin. 2, 516-540.

123 HAGADORN I.R., 1966 a - The histochemistry of the neurosecretory system in Hirudo medicinalis. Gen. Comp. Endocrin., 6, 288-294.

124 HAGADORN I.R., 1966 b - Neurosecretion in the Hirudinea and its possible role in reproduction. American Zoo., 6, 251-262.

125 HAGADORN I.R., BERN H.A. and NISHIOKA R.S., 1963 - The fine struture of supraoesophageal ganglion of the rhynchobdellid leech, Theromyzon rude, with special reference to neurosecretion. Z. Zellforsch., 58, 714-758.

126 HAMAKER J.I., 1898 - The nervous system of Nereis virens Sars. A study in comparative neurology. Bull. Mus. Comp. Zool., Harvard Bull., 32, 87-124.

127 HANSTROM B., 1927 - Das zentrale und periphere Nervensystem des Kopflappens einiger Polychäten, Zeits. Morphol. Oekol. Tiere, Berlin, 7, 543-596.

128 HANSTROM B., 1928 - Vergleichende Anatomie des Nervensystem der wirbellosen Tiere, unter Berücksischtigung seiner Funktion, Berlin, J. Springer Ed.

129 HATSCHEK B., 1893 - System der Anneliden ein Vorläufigen Bericht. Lotos, 13, 123.

129 HAUENSCHILD C. , 1959 - Zyklische Veränderungen an den inkretorischen Drüsenzellen im Prostomium des Polychaeten Platynereis dumerilii als Grundlage der Schwärmperiodizität. Z. Naturforsch., 14, 81-87.

130 HAUENSCHILD C., 1966 - Der hormone Einfluss des Gehirns auf die sexuelle Entwicklung bei dem Polychaeten Platynereis dumerilii. Gen Comp.Endocrin., 6, 26-73.

131 HAUENSCHILD C.und FISCHER A., 1962 - Neurosecretory control of development in Platynereis dumerilii. Mem. Soc.Endocrinol., Bristol, 12 297-312.

132 HEBB C., 1963 - Formation storage and liberation of acetycholine. In Handbuch der Experimentellen Pharmakologie Erg. XV, G.B. Koelle ed. Springer Verlag, Berlin, 55-88.

133 HEBB C., SILVER A., SWAN A.A.B. and WALSH E.G., 1953 - A histochemical study of cholinesterases of rabbit retina and optic nerve. Quart. J. Exp. Physiol., 38, 185-191.

134 HEMPELMANN F., 1931 - Polychaeta . In : Kükenthal und Krumbach Handbuch der Zoologie. 2 Tl 2, Lf 12, 13

135 HERLANT-MEEWIS H., 1955 - Neurosécrétion chez les Oligochètes, Acad. Roy. de Belgique, Bull. Cl. des Sc., 41 500-508.

136 HERLANT-MEEWIS H., 1956 - Croissance et neurosecretion chez Eisenia foetida (Sav.) Ann. Sci. Nat. Zool., 18, 185-198.

137 HERLANT-MEEWIS H., 1957 - Reproduction et neurosecretion chez Eisenia foetida. Ann. Soc. Roy. Zool. Belgique , 87 , 151-183.

138 HERLANT-MEEWIS H., 1959 - Phénomènes neurosécrétoires et sexualité chez Eisenia foetida.C.R. Acad. Sci. Paris, 248, 1405-1407.

139 HERLANT-MEEWIS H., 1961 - Régénération du système nerveux chez Eisenia foetida.(Sav.). Bull. Biol. France et Belgique. 95 , 695-730.

140 HERLANT-MEEWIS H., 1964 - Regeneration in Annelids . Advances in morphogenesis. Acad. Press, N.Y. and Lond., 4, 155-215.

141 HERLANT-MEEWIS H. and DELIGNE J., 1965 - Influence of the nervous system on regeneration in Annelids . Proc. Regeneration in Animals, North Hall Publ. co Amsterdam, 228-249.

142 HERLANT-MEEWIS H. et VAN DAMME N., 1962 - Phénomènes neurosécrétoires chez Nereis diversicolor et Eisenia foetida. C.R. Acad. Sci. Paris, 255, 2291-2293.

143 HERMANS C.O., 1969 - Fine structure of the segmental ocelli of Armandia brevis (Polychaeta, Opheliidae). Z. Zellforsch., 96, 361-371.

144 HERMANS C.O. and CLONEY R.A., 1966 - Fine structure of the prostomial eyes of Armandia brevis (Polychaeta Opheliidae). Z. Zellforsch, 72, 583-596.

145 HOKFELT T., 1970 - Electron microscopic studies on peripheral and central monoamine neurons. In : Aspects of Neuroendocrinology. Ed Bergman W. and Schauer B, Springer Verlag Berlin.

146 HÖKFELT T. et LJUNGDAHL Å., 1972 - Application of cytochemical techniques to the study of suspected transmitter substances in the nervous system. Adv. in Biochem. Psychopharm., 6, 1-36. Raven Press, N.Y.

147 HOLMGREN N., 1916 - Zur vergleichenden anatomie des Gehirns der Polychaeten. K. Svenska Vetensk. Akad. Handl., 56, 1-303.

148 HORRIDGE, 1963 - Proprioceptors, bristle receptors, efferent sensory impulses, neurofibrils and number of axons in the parapodial nerve of the polychaete Harmothoë. Proc. Roy. Soc. B., 157, 199-228.

149 HOWIE D.I.D, 1962 - Neurosecretion in relation to spawning and maturation of the gametes in Arenicola marina L. Gen. Comp. Endocr., 2,624.

150 HOWIE D.I.D., 1963 - Experimental evidence for the humoral stimulation of ripening of the gametes and spawning in the polychaete Arenicola marina L. Gen. Comp. Endocr. , 3 , 660-668.

151 HOWIE D.I.D., 1965 - Problems relating to the site of secretion of the maturation hormone in the lugworm Arenicola marina L. IIIrd Conf. of Europ. Comp. Endocr., Gen. Comp. Endocr., 5 , 686.

152 HOWIE D.I.D., 1966 - Further data relating to the maturation hormone and its site of secretion in Arenicola marina L. Gen. Comp. Endocr., 6, 347-361.

153 ISRAEL M. and TUCEK S., 1974 - Utilization of acetate and Pyruvate for the synthesis of "Total", "Bound" and "Free" acetylcholine in the electric organ of Torpedo. J. Neurochem., 22 487-491.

154 JACQUOT C., 1970 - Metabolisme, fixation et liberation de l'éphédrine et de la parahydroxyéphédrine dans les tissus du Rat. Applications à l'étude de la tachyphylaxie. Thèse de Doctorat Sci. Paris, 25.

155 KARLI P., 1957 - Une méthode de coloration histochimique du pourpre rétinien, Ann. Histochem., 2, 34-40.

156 KATZMAN R., BJÖRKLUND A., OWMAN CH., STENEVI V. and WEST K.A., 1971 - Evidence for regenerative axon sprouting of central catecholamine neurons in the Rat mesencephalon following electolytic lesion. Brain Res., 25, 574-596.

157 KELLY D., 1966 - Fine structure of desmosomes, hemidesmosomes and epidermal globular layer in developing newt epidermis. J; Cell. Biol., 28, 51-72.

158 KENNEDY D., 1963 - Physiologie of photoreceptor neurones in the abdominal nerve cord of the crayfish. J. gen. Physiol., 46, 551-572.

159 KERKUT G.A., SEDDEN C.B. and R.J. WALKER, 1967 - Cellular localization of monoamines by fluorescence microscopy in Hirudo medicinalis and Lumbricus terrestris. Comp. Bioch. and Physiol., 21, 687-690.

160 KERNEIS A., 1966 - Photorecepteurs du panache de Dasychone bombyx (Dalyell), Annélides Polychètes. Morphologie et ultrastructure. C.R. Acad. Sci. (Paris), 263, 653-656.

161 KERNEIS A., 1968 - Nouvelles données histochimiques et ultrastructurales sur les photorécepteurs "branchiaux" de Dasychone bombyx (Dalyell)(Annélides Polychètes). Z. Zellforsch., 86, 280-292.

162 KERNEIS A., 1971 - Etudes histologique et ultrastructurale des organes photorécepteurs du panache de Potamilla reniformis (O.F. Muller) (Annélides Polychètes). C.R. Acad. sci. Paris, 273, 372-375

163 KIORTSIS V. et MORAITOU M., 1965 - Factors of regeneration in Spirographis Spallazanii. Proc. Regeneration in Animals, North. Hall, Publ. Co., Amsterdam.

164 KLEINENBERG N., 1886 - Die Entstehung des Annelids aus der Larve von Lopadorhynchus. Nebst bemerkung über die Entwicklung anderer Polychaeten. Z. Wiss. Zool., 44, 1-227.

165 KORITSANSZKY S., 1974 - Identification of monoaminergic fluorescent neurons by Azan. Staining in the cerebral ganglion of the Earthworm Allolobophora caliginosa. Cell.Tis . Res., 149, 137-141.

166 KRASNE F.B. and LAWRENCE P.A., 1966 - Structure of the photoreceptors in the compound eyespots of Branchiomma vesiculosum. J.Cell. Sci. 1, 239-248.

167 KUZMINA L.V., 1968 - Distribution of biogenic amines in the nervous system of the body segments of the leech Hirudo medicinalis. J. Evol. Biochem. Physiol., Suppl. 4, 50-56. (en russe).

168 LARIMER J.L., 1966 - A functionnal caudal photoreceptor in blind cavernicolous crayfish. Nature (London), 210, 203-205.

169 LARRA F. et DROZ B., 1970 - Techniques autoradiographiques et leur application à l'étude du renouvellement des constituants cellulaires. J. Microscopie, 9, 845-880.

170 LAVERTY R. and SHARMAN D.F., 1964 - A sensitive method for the estimation and identification of dopamine. J. Physiol., (Lond.), 175, 27.

171 LAVERTY R. and SHARMAN D.F.,1965 - The estimation of small quantities of 3-4 dihydroxyphenyl-ethylamine in tissues. Brit. J. Pharmacol., 24, 538-555.

172 LEVI J.V., COWDEN R.R. and COLLINS G.H., 1966 - The miscrocopic anatomy and ultrastructure of the nervous system in the Earthworm (Lumbricus Sp),With emphasis on the relationship between glial cells and neurons. J. Comp. Neur., 127, 489-510.

173 L'HERMITE P., 1969 - Capture et stockage des amines catéchiques par les fibres adrenergiques du système nerveux central et périphérique. I-Etude de la technique cytochimique de Falck. Arch.Anat.Micr.Morph. Exp., 58 , 203-218.

174 McINTOSH F.C. and PERRY W.L.M., 1950 - Biological estimation of acetylcholine, Methods Med. Res., 3, 78-92.

175 MANARANCHE R., 1966 - Anatomie du ganglion cérébroïde de Glycera convoluta K. (Annélide Polychète). avec quelques remarques sur certains organes prostomiaux. Cah. Biol., Mar. Fr., 7, 259-280.

176 MANARANCHE R., 1968 - Sur la présence de cellules d'allure photo-réceptrice dans le ganglion cérébroïde de Glycera convoluta. (Annélide Polychète). J. Microscopie, 7, 44 a.

177 MANARANCHE R., 1971 - Ultrastructure de cellules d'allure photo-réceptrice dans le ganglion cérébroïde de Glycera convoluta K. (Annélide Polychète). J. Microscopie, 11, 433-440.

178 MANARANCHE R. et L'HERMITE P., 1973 - Etude des Amines biogènes de Glycera convoluta K. (Annélide Polychète). Z. Zellforsch., 137, 21-36.

179 MARSDEN C.A. and KERKUT G.A., 1969 - Fluorescent microscopy of the 5HT and catecholamine containing cells in the central nervous system of the leech Hirudo medicinalis. Comp. Biochem.and Physiol., 31, 851-862.

180 MINZ B., 1932 - Eine Methode zum biologischen Nachweis von Azetylcholine, Arch. Exp. Path. Pharmak., 167, 85-87.

181 MYHRBERG H.E., 1967 - Monoaminergic mechanisms in the nervous system of Lumbricus terrestris.(L.) Z. Zellforsch., 81, 311-343.

182 NICAISE G., 1972 - Le système glio-interstitiel des Mollusques. Essai de définition ultrastructurale et histochimique chez les Doridiens. Thèse Sciences Lyon I.

183 NICOL J.A.C., 1948 a - The giant axons of Annelids. Quart Rev. Biol., 23 291-323.

184 NICOL J.A.C., 1948 b - The giant nerve fibres in the central nervous sytem of Myxicola (Polychaeta Sabellidae). Quart J. Micr. Sc. (2), 89, 1-45.

185 NICOL J.A.C., 1952 - Muscle activity and drug action in the body wall of the sabellid worm Branchiomma vesiculosum(Montagu). Physiol.Comp.Oecol., 2, 339-345.

186 NISHIOKA R.S., YASUMASU I., PACKARD A., BERN H.A. and YOUNG J.Z. ,1966 - Nature of vesicles associated with the nervous system of cephalopods. Z. Zellforsch., 75, 301-316.

187 OKADA YK., 1934 - Regeneration de la tête chez la Polychète Myxicola aesthetica (Clap), Bull. Biol. France Belgique, 68, 340-384.

188 OOSAKI T., 1966 - Observations on the ultrastructure of nerve cells in the brain of the earthworm Eisenia foetida with special reference to neurosecretion. Z. Zellforsch.,72, 534-542.

189 PALMER A.C. and ELLERKER A.R., 1961 - Histochemical localization of cholinesterases in the brain stem of sheep. Quart. J. Exp. Physiol., 46, 344 -352.

190 PALMGREN A., 1955 - Staining nerve fibres after sublimate acetic and after Bouin's fluid. Stain Technol., 30, 31-36.

191 PELLEGRINO DE IRALDI A. et DE ROBERTIS E., 1962 - in DE ROBERTIS E, (1964) -"Histophysiologie des synapses et neurosecretion" 7, 252. Gauthier Villars , Paris.

192 POLL H., 1909 - Die chrombraunen Zellen in Zentral nervensystem der Ringelwürmer. S.B. preuss. Akad. Wiss., 2, 889-896.

193 PRUVOT G., 1885 - Recherches anatomiques et morphologiques sur le système nerveux des Annélides Polychètes. Arch. Zool. Exp. et Gen. 3 ,211-236

194 QUATREFAGES A. de , 1841 - Sur le système nerveux des Annélides. Ann. des Sci. Nat. Zool. 3° série, 2 .

195 QUATREFAGES A. de , 1850 - Mémoire sur le système nerveux des Annélides propremens dites. Ann. des Sci. Nat.Zool. 3°série, 4 .

196 RACOVITZA E.G., 1896 - Le lobe céphalique et l'encéphale des Annélides Polychètes (Anatomie, morphologie, histologie). Arch. Zool. Exp. Gen. 3°série , 4 , 135-143.

197 RAW F., 1949 - Some stages in the evolution of the nervous system and the fore-gut of the Polychaete. Smith. Misc. Coll., 111, 1-35.

198 RICHARDSON K.G., 1963 - The fine structure of autonomic nerve endings in smooth muscle of the rat Vas deferens. J. Anat., 96, 427-442.

199 RÖHLICH P., 1970 - A possible mechanism of formation of the discs in retinal rods. Microscopie Electronique,Grenoble 1970, Favard P. Ed Soc. Fr. Micr. Electr. 3, 747-748.

200 RÖHLICH P., AROS B., et VIGH B., 1962 - Elektronenmikroskopische Untersuchungen der Neurosekretion im cerebral Ganglion des Regenwurmes (Lumbricus terrestris). Z. Zellforsch., 104, 345-357.

201 RÖHLICH P., AROS B. and VIRAGH Sz., 1970 - Fine structure of photoreceptor cells in the earthworm, Lumbricus terrestris. Z. Zellforsch., 104, 345-357.

202 ROHLICH P. and TOROK L.J., 1964 - Elektronenmikoskopische Beobachtung an den Sehzellen des Blutagels, Hirudo medicinalis. Z. Zellforsch., 63, 618-635.

203 ROSENBLUTH J., 1963 - The visceral ganglion of Aplysia californica. Z. Zellforsch., 60, 258-275.

204 ROZIER J., 1960 - Contribution à l'étude du rôle du système nerveux dans la régénération céphalique chez Eisenia foetida. Thèse de 3° cycle, Bordeaux.

205 RUDE S., 1966 - Monoamine containing neurons in the nerve cord and Body wall of Lumbricus terrestris. J. Comp. Neurol., 128, 397-412.

206 RUDE S., COGGESHALL R.E. and VAN ORDEN L.,1969 - Chemical and ultrastructural identification of 5 hydroxytryptamine in an identified neuron. J. Cell. Biol., 41, 832-854.

207 SCHAEFER K., 1939 - Lage und Sekretion der Drüsennervenzellen von Nereis diversicolor. Müll. Zool. Anz., 125, 195-202.

208 SCHARRER B., 1936 - Uber Drüsen Nervenzellen im gehirn von Nereis Virens, Sars. Zool. Anz., 113, 299-302.

209 SCHARRER B., 1941 - Neurosecretion III. The cerebral organ of Nemerteans. J. Comp. Neur., 74, 109-130.

210 SCHARRER E. and BROWN S., 1961 - Neurosecretion XII , The formation of neurosecretory granules in the earthworm Lumbricus terrestris. Z. Zellforsch., 54, 530-540.

211 SCHARRER E. and BROWN S., 1962 a - Neurosecretion in Lumbricus terrestris, Gen. Comp. Endocr., 2, 1-3.

212 SCHARRER E. and BROWN S., 1962 b - Electron microscopic studies of neurosecretory cells in Lumbricus terrestris. Mem. Soc. f. Endocr. 12, Neurosecretion, Acad. Press, London, 103-105.

213 SILVER A., 1974 - The biology of cholinesterases. North Holland Res. Mon. Frontiers of Biology , 36, North Holland Publ., Amsterdam.

214 SIMPSON M., 1959 - The saccular apparatus in the brain of Glycera dibranchiata. J. Morph., 104, 561-590.

215 SIMPSON M., 1962 - Reproduction of the Polychaete Glycera dibranchiata of Solomons, Maryland. Biol. Bull., 123, 396-411.

216 SINGER M., 1965 - A theory of the trophic nervous control of amphibian limb regeneration, including a re-evaluation of quantitative nerve requirements. In ; Regeneration in Animals and related problems. V. Kiortsis and H.A.C Trampusch Eds,North Holland Publ., Amsterdam, 20-32.

217 SÖDERSTRÖM A., 1920 - Studien über die Polychaeten-familie Spionidae. Uppsola.

218 STAUBESAND J., KUHLO B. und KERSTING K.H., 1963 - Licht und Elektronenmickroskopische Studien Nevernsystem des Regenwurms. Z. Zellforsch., 61, 401-433.

219 STOLTE H.A., 1932 - Untersuchungen über Bau und Funktion der Sinnesorgane der Polychätengartung Glycera Sav. Zeitschrift f. wissensch. Zoologie, 140, 421-538.

220 STORCH V., 1968 - Zur Vergleichenden Anatomie der segmentalen Muskelsysteme und zur Verwandtschaft der Polychaeten-Familien. Z. Morph. Tiere, 63, 251-342.

221 SZERB J.C., 1961 - The estimation of acetylcholine using leech muscle in a microbath. J. Physiol., 158, 8p.

221 TAKEUCHI N., 1965 - Incretory elements in the brain of Nereids with special reference to secretory nature of the neurosensory cells in the nuchal center. Sci. Rep. Tôhoku Univ. Fourth Ser. (Biol.), 31 125-133.

222 TAKEUCHI N., 1968 - Structure of intraganglionic capillary in neuropil of the cerebral ganglion of earthworm with special reference to the neurosecretion. The Sc. Rep. of the Tôhoku Univ.,Fourth Series, Biol., 34.

223 TAXI J., 1965 - Contribution à l'étude des connexions des neurones moteurs du système nerveux autonome. Ann. Sc. Nat. Zool. (Paris), 7, 413-674.

224 TAXI J. et SOTELO C., 1972 - Le problème de la migration des catécholamines dans les neurones sympathiques. Les Mediateurs chimiques, 23ème Réunion Neurol. Int., Paris 1972,23-36.

225 TEICHMANN I. and AROS B., 1966 - Fluorescence microscopic demonstration of catecholamine containing nerve cells and fibres in the central nervous system of Invertebrates. Acta Morph.Acad. Sci. Hung., 14, 350.

226 TEICHMANN I. , AROS B. and VIGH B., 1966 - Histochemical studies on Gomori-positive substances. III. Examination of the earthworm's neurosecretory system (Lumbricus herculeus, Eisenia foetida). Acta Biol. Hung., 17, 329-357.

227 TERAVAINEN H., 1969 - Ultrastructural distribution of cholinesterase activity in the ventral nerve cord of the earthworm Lumbricus terrestris. Histochem., 18,177-190.

228 THOUVENY Y., 1959 - Origine des cellules nerveuses dans la régénération de l'Annélide Polydora flava (Clap). Bull. Soc. Zool. France 84, 439-445.

229 THOUVENY Y., 1965 - Aspects histologiques de la régénération chez Polydora flava : mise en évidence par irradiation et culture en milieu synthétique. Proc. Regeneration in Animals V. Kiortsis and H.A.L. Trampusch Eds, North Holl., Amsterdam, 262-271.

230 THOUVENY Y., 1967 - Les systèmes histogénétiques et la dédifférenciation cellulaire dans la morphogénèse des Annélides Polychètes. Arch. Zool. Exp. Gen., 108, 347-386.

231 TREHERNE J.E., CARLSON A.D. and GUPTA B.L., 1969 - Extra-neuronal sodium store in central nervous system of Anodonta cygnea. Nature(Lond),223, 377-379.

232 TSUJI S., 1974 - On the chemical basis of thiocholine methods for demonstration of acetylcholinesterase activities. Histochem. 42, 99-110.

233 UCHIZONO K., 1961 - Possible photoreceptors in sixth ganglion of the crayfish. Fed. Proceed., 20, 325.

234 USCHAKOV P.V., 1955 - Polychaeta of the far-eastern Seas of the USSR. Moscow Acad. Sci. USSR.

235 VAN DE KAMER J.C., 1965 - Histological structure and cytology of the pineal complex in Fishes, Amphibians and Reptiles. In : Progress in Brain Res.10 ,, J.A.Kappers and J.P. Schade (ed) Elsevier Publ. Co. Amsterdam.

236 VIALLI M;, 1934 - Le cellule cromaffini dei ganglia nervosi negli irudinei. Atti. Soc. Ital. Sci. Nat., 73, 57-73.

237 VIGH-TEICHMANN I. und GOSLAR H. G., 1968 - Enzymhistochemische Studien am Nervensystem. III Das Verhalten einiger Hydrolasen im Nervensystem des Regenwurmes (Eisenia foetida). Histochem. 14, 352-365.

238 WALTHER J.B., 1966 - Single cell responses from the primitive eyes of an Annelid. The functional organization of the compound eye. Oxford Pergamon Press, 329-336.

239 WAREMBOURG M. et DHAINAUT-COURTOIS N., 1969 - Etude des monoamines biogènes dans le système nerveux des Nereidae. (Annélides Polychètes). C.R. Acad. Sci.(Paris), 229, 654-655.

240 WELSH V., 1968 - Die Feinstruktur der Josephschen Zellen im Gehirn von Amphioxus. Z. Zellforsch., 86, 252-261.

241 WELSH J.H. and MOORHEAD M., 1960 - The quantitative distribution of 5 Hydroxytryptamine in the invertebrates especially in their nervous system. J. Neurochem., 6, 146-169.

242 WHITE R.H. and WALTHER J.B., 1969 - The leech photoreceptor cell : Ultrastructure of clefts connecting the phaosome with extracellular space demonstrated by lanthanum deposition. Z. Zellforsch, 95, 102-108.

243 WILLIAMS C.M., 1963 - Control of pupal diapause by the direct action of light on the insect brain. Science, 140, 386.

244 WUERKER R.B., 1970 - Neurofilaments and glial filaments. Tissue and cell., 2, 1-9.

245 YANASE T., FUGIMOTO K and NISHIMURA T., 1964 - The fine structure of the dorsal ocellus of the leech, Hirudo medicinalis. Mem. Osaka, Gakugei, Univ.B, 13, 117-119.

246 ZAHID Z.R. and GOLDING D.W., 1974 - Structure and ultrastructure of the central nervous system of the Polychaete Nephthys with special reference to photoreceptor elements. Cell. Tiss. Res., 14 a, 567 - 576.

247 ZIMMERMANN P., 1968 - Structure, Distribution and Function of the attachment zones in the ventral nerve cord of Lumbricus terrestris L. Light and electron microscopic studies. Z. Zellforsch., 87, 137-158.

248 ZIMMERMANN P., 1970 - Bezichungen verschieddenartiger Zellcomplexedes normalen und regenerierenden Nervensystems von Lumbricus terrestris L. zum gefäß system. Z. Zellforsch., 106, 423-438.

249 ZIMMERMANN H. and WHITTAKER VP, 1974 - Effect of electrical stimulation on the yield and composition of synaptic vesicles from the cholinergic synapses of the electric organ of Torpedo : a continued biochemical electrophysiological and morphological study. J. Neurochem., 22 435-450.

Service de Reprographie
C.N.R.S.
Gif